

**VALIDACIÓN DEL METODO DEL ACIDO ASCÓRBICO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL Y ORTOFOSFATO EN AGUA  
POTABLE, NATURAL Y RESIDUAL  
EN EL LICAM SENA-CCIT.**



**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
MONTERÍA – CÓRDOBA**

**2019**

**VALIDACIÓN DEL METODO DEL ACIDO ASCÓRBICO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL Y ORTOFOSFATO EN AGUA  
POTABLE, NATURAL Y RESIDUAL  
EN EL LICAM SENA-CCIT.**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de  
Químico**

**MARÍA CAMILA GÓMEZ SALAZAR**

**Director**

**CARLOS ANDRÉS BURGOS GALEANO**

**M. Sc.**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
MONTERÍA – CÓRDOBA**

**2019**

**DEDICATORIA**

*A mis padres, Liliana Salazar y Álvaro Gómez que me dieron una segunda oportunidad que me permitió cumplir esta meta, y A mis abuelos, y en especial a mi abuela Zobeida Rivera que ha estado presente en cada etapa de mi vida apoyándome.*

*Gracias*

## AGRADECIMIENTOS

*Quiero agradecer a todas las personas que de una u otra manera han estado en mi vida, a todas aquellas que me han tolerado, apoyado y acompañado en cada paso de mi vida y también a todas aquellas que se han ido, ya que gracias a todos ellos he llegado a ser la persona que hoy soy.*

*A mis padres Álvaro Gómez y Liliana Salazar por tenerme tanta paciencia, después de todo de algo sirvió.*

*A mi hermana Carolina Gómez quien me motivó y apoyó en cada momento difícil.*

*A todos los docentes del programa de Química, que de una manera u otra manera contribuyeron en mi proceso de formación profesional y en especial a mi director de tesis CARLOS BURGOS GALEANO.*

*A todos los compañeros del LICAM con quienes compartí y hacían cada día de trabajo más ameno, a Octaviano Contreras por toda su ayuda y en especial a Cristian Castellanos por brindarme su conocimiento, ayuda, paciencia y apoyo en cada etapa de este proceso.*

*Y a mis amigos Iván Jaimes y Never Hernández que me brindaron su amistad y apoyo incondicional.*

### NOTA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado titulado 'VALIDACION DEL METODO DEL ACIDO ASCÓRBICO PARA LA DETERMINACION DE FÓSFORO TOTAL Y ORTOFOSFATO EN AGUA POTABLE, NATURAL Y RESIDUAL EN EL LICAM SENA - CCIT' realizado por la estudiante: MARIA CAMILA GÓMEZ SALAZAR, cumple con los requisitos exigidos por la facultad de Ciencias Básicas para optar por el título de QUÍMICO ha sido aprobada.



**CARLOS BURGOS GALEANO. M.SC**  
Director



**JOSÉ JOAQUÍN PINEDO HERNÁNDEZ**  
Jurado



**BASILIO DÍAZ PONGUTÁ**  
Jurado

## LISTA DE ACRÓNIMOS

<b>%CV</b>	Coeficiente de variación
<b>%E</b>	Porcentaje de error
<b>%R</b>	Porcentaje de recuperación
<b>S<sup>2</sup></b>	Varianza
<b>U<sub>c</sub></b>	Incertidumbre combinada
<b>U<sub>est</sub></b>	Incertidumbre estándar
<b>U<sub>Exp</sub></b>	Incertidumbre expandida
<b>M<sub>AN</sub></b>	Muestra de agua natural
<b>M<sub>AP</sub></b>	Muestra de agua potable
<b>M<sub>AR</sub></b>	Muestra de agua residual
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	Fosfatos
<b>P – PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	Fósforo en forma de fosfato
<b><math>\bar{x}</math></b>	Promedio
<b><math>\Sigma</math></b>	Sumatoria
<b>Abs.</b>	Absorbancia
<b>AOAC</b>	Asociación oficial de química analítica
<b>CCIT</b>	centro de comercio, industria y turismo
<b>LC</b>	Límite de cuantificación

<b>LDI</b>	Límite de detección instrumental
<b>LDM</b>	Límite de detección del método
<b>LICAM</b>	Laboratorio de investigación y calidad ambiental
<b>P</b>	Fósforo
<b>S</b>	Desviación estándar
<b>Uv/Vis</b>	Ultravioleta visible

## **TABLA DE CONTENIDO**

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Fósforo .....	5
2.2.1. Generalidades.....	6
2.2.2. El fósforo y el medio ambiente.....	6
2.2.3. Ciclo del fósforo. ....	7
2.2.4. Presencia de Fósforo. ....	9
2.3. Marco Legal.....	10
2.3.1. Normatividad. ....	10
2.4. Determinación De Fósforo Soluble .....	12
2.5. Determinación De Fosforo Soluble Por El Método Del Ácido Ascórbico.....	13
2.5.1. Principio del método.....	13
2.5.2. Interferencia del método .....	13
2.5.3. La concentración mínima detectable. ....	14
2.6. Espectrofotometría Ultravioleta –Visible .....	14
2.7. Validación De Métodos Analíticos.....	16
2.7.1. Límite de Detección.....	16



2.7.2.	Límite de cuantificación. ....	17
2.7.3.	Linealidad. ....	18
2.7.3.1.	Rango lineal. ....	19
2.7.3.2.	Ecuación de la recta. ....	20
2.7.3.3.	Coeficiente de correlación y coeficiente de determinación. ....	20
2.7.3.4.	Varianza residual constante (homocedasticidad). ....	21
2.7.3.5.	Análisis de varianza: ANOVA. ....	21
2.7.3.6.	Homogeneidad de varianzas. ....	22
2.7.3.7.	Normalidad de Residuales. ....	22
2.7.3.8.	Coeficiente de variación de del factor respuesta (f). ....	23
2.7.3.9.	Significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente. ....	23
2.7.3.10.	Sensibilidad. ....	24
2.7.3.11.	Intervalo lineal. ....	25
2.7.3.12.	Intervalo de trabajo o de lectura directa. ....	25
2.7.3.13.	Intervalo de aplicación del método ....	25
2.7.4.	Exactitud. ....	25
2.7.5.	Precisión. ....	27
2.7.6.	Incertidumbre. ....	28
2.7.6.1.	Tipos de incertidumbre. ....	29
2.7.6.2.	Identificación de las fuentes de incertidumbre. ....	31

2.7.6.3.	Funciones de distribución.....	31
2.7.6.4.	Fuentes y valores comunes de incertidumbre.....	33
2.7.6.4.1.	Incertidumbre asociada a la medición de masa o peso: .....	33
2.7.6.4.2.	Incertidumbre asociada a la medición del volumen .....	34
2.7.6.4.3.	Incertidumbre en la Preparación de Estándares .....	35
2.7.6.4.4.	Incertidumbre asociada a la curva de calibrado. ....	36
2.7.6.5.	Calculo de la incertidumbre combinada. ....	37
2.7.6.5.1.	Incertidumbre estándar combinada .....	37
2.7.6.5.2.	La incertidumbre expandida.....	37
2.7.6.6.	Reporte de Incertidumbre. ....	38
3.	OBJETIVOS .....	39
3.1.	Objetivo General.....	39
3.2.	Objetivos Específicos.....	39
4.	METODOLOGÍA .....	40
4.1.	Parte Experimental-Ortofosfatos .....	40
4.1.1.	Materiales, Equipos y Reactivos.....	40
4.1.2.	Muestreo y Preservación.....	41
4.1.3.	Protocolo de Análisis .....	41
4.1.3.1.	Procedimiento de preparación de estándares.....	41
4.1.3.1.1.	Preparación de la curva de calibrado.....	42

4.1.3.2.	Procedimiento de análisis de muestras. ....	42
4.2.	Parte Experimental- Fósforo Total.....	43
4.2.1.	Materiales, equipos y reactivos.....	43
4.2.2.	Muestreo y preservación. ....	44
4.2.3.	Protocolo de análisis .....	44
4.2.3.1.	Procedimiento de preparación de estándares. ....	44
4.2.3.1.1.	Preparación de la curva de calibrado.....	45
4.2.3.2.	Procedimiento de análisis de muestras. ....	45
4.3.	Plan De Validación .....	47
4.3.1.	Análisis Estadístico.....	49
4.4.	Incertidumbre.....	50
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	51
5.1.	Prueba de Grubbs.....	51
5.2.	Linealidad e intervalo lineal.....	53
5.2.1.	Análisis de linealidad.....	55
5.2.1.1.	Varianza residual constante (homocedasticidad) .....	56
5.2.1.2.	Test de Durbin-Watson.....	57
5.2.1.3.	Coeficiente de variación de los factores de respuesta. ....	58
5.2.1.4.	Test de significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente.	

5.2.1.5.	Homogeneidad de varianzas .....	59
5.2.1.6.	Normalidad de los residuales.....	59
5.2.2.	Límites de detección y cuantificación.....	60
5.2.3.	Precisión.....	62
5.2.4.	Exactitud .....	65
5.3.	Incertidumbre.....	68
6.	CONCLUSIONES .....	71
7.	RECOMENDACIONES.....	72
8.	BIBLIOGRAFÍA .....	73
9.	ANEXOS .....	78
	ANEXO A. LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN .....	78
	Ortofosfatos.....	78
	Fosforo Total.....	79
	ANEXO B. TEST DE LINEALIDAD.....	82
	Ortofosfatos.....	82
	Fosforo Total.....	85
	ANEXO C. PRECISIÓN .....	89
	Ortofosfatos.....	89
	Fosforo Total.....	92
	ANEXO D. EXACTITUD.....	96

Ortofosfatos.....	96
Fosforo total.....	99
ANEXO E. INCERTIDUMBRE .....	102
Ortofosfatos.....	102
Fosforo Total.....	107

## Índice de tablas

Tabla 1. Rangos de detección de fósforo .....	14
Tabla 2. Recuperación esperada en función de la concentración del analito.....	26
Tabla 3. Funciones de distribución de incertidumbre .....	32
Tabla 4. Plan de validación.....	47
Tabla 5. Test de Grubbs para la curva de calibrado.....	52
Tabla 6. Datos para la determinación del intervalo lineal. ....	53
Tabla 7. Test de Durbin-Watson.....	58
Tabla 8. Test de significancia estadística.....	58
Tabla 9. Test de Cochran. ....	59
Tabla 10. Test de Shapiro-Wilks .....	60
Tabla 11. Limite de cuantificación del método para Ortofosfatos.....	61
Tabla 12. Limite de cuantificación del método para Fosforo Total.....	61
Tabla 13. Repetibilidad de estándares analista 1 .....	62
Tabla 14. Repetibilidad de estándares analista 2 .....	63
Tabla 15. Repetibilidad de muestras analista 1 .....	63
Tabla 16. Reproducibilidad entre Días analista 1 .....	64
Tabla 17. Reproducibilidad entre analistas .....	64
Tabla 18. Reproducibilidad de muestras entre días .....	65
Tabla 19. % Error para estándares .....	66
Tabla 20. %Error para estándares analista 2 .....	66
Tabla 21. % R para matrices .....	67
Tabla 22. Incertidumbre Expandida.....	68

## Índice de figuras

Figura 1. Ciclo del fósforo.....	8
Figura 2. Diseños instrumentales de fotómetros o espectrofotómetros para la región UV- visible.....	16
Figura 3. Diagrama de Ishikawa para la identificación de fuentes de incertidumbre.....	50
Figura 4. Determinación del intervalo lineal para Ortofosfatos .....	54
Figura 5. Determinación del intervalo lineal para Fósforo Total.....	54
Figura 6. Curva de calibrado para Ortofosfatos.....	55
Figura 7. Curva de calibrado para Fósforo Total.....	55
Figura 8. Gráfica de residuos vs predicho para la curva de Ortofosfatos. ....	57
Figura 9. Curva de calibrado para Fosforo Total.....	57
Figura 10. Fuentes de Incertidumbre Rango Bajo .....	68
Figura 11. Fuentes de Incertidumbre Rango Medio .....	69
Figura 12. Fuentes de Incertidumbre Rango Alto.....	69
Figura 13. Fuentes de Incertidumbre Rango Bajo .....	69
Figura 14. Fuentes de Incertidumbre Rango Medio .....	70
Figura 15. Fuentes de incertidumbre Rango Alto.....	70





## RESUMEN

Este trabajo de grado tuvo como objetivo la validación e implementación de las metodologías analíticas para la determinación de Ortofosfatos y Fósforo Total en muestras de agua potable, natural y residual por el método del ácido ascórbico mediante la espectrofotometría de Uv-Vis en el laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA-CCIT, de acuerdo al método 4500-P E. del *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* 2017, adicionalmente se verifico que los datos obtenidos cumplieran con los criterios establecidos en el procedimiento de control de calidad analítico LICAM-PTA-001.

Para la validación de esta metodología para la cuantificación de Ortofosfatos y Fósforo Total se determinaron los parámetros de linealidad, precisión expresada como repetibilidad y reproducibilidad, exactitud expresada como porcentaje de error y porcentaje de recuperación, incertidumbre, límite de detección y límite de cuantificación. Los límites de cuantificación establecidos para Ortofosfatos y Fosforo Total fueron de  $0.05 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$  y  $0.1 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$  respectivamente, la exactitud del método evaluada como porcentajes de recuperación y porcentaje de error cumplió con lo establecido por el procedimiento control de calidad analítico LICAM-PTA-001 de acuerdo al rango de concentraciones analizadas.

Adicionalmente se determinó la incertidumbre, en unidades de  $\text{mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ , para Ortofosfatos, obteniéndose valores de  $\pm 0.007$  para rango bajo,  $\pm 0.024$  para rango medio y  $\pm 0.041$  para rango alto, mientras que para el método de Fósforo Total se obtuvieron valores de  $\pm 0.015$  para rango bajo,  $\pm 0.030$  para rango medio y  $\pm 0.042$  para rango alto.

## INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas acuáticos cercanos a zonas densamente pobladas de todo el mundo presentan valores muy altos de fósforo lo cual altera el funcionamiento de los ecosistemas, dificultando la conservación y reducción de la calidad del agua. Las aportaciones excesivas de fósforo favorecen un proceso que se conoce como ‘eutrofización’ del agua. Consiste en una fertilización que origina un crecimiento desmedido de algunas especies de algas en superficie que terminan por impedir el paso de la luz, de manera que las algas del fondo no pueden realizar la fotosíntesis y el agua acaba perdiendo casi todo el oxígeno (Yan, Peñuelas, Sardans, & et-al, 2016)

El fósforo se encuentra en aguas naturales y residuales casi exclusivamente como fosfatos, los cuales se clasifican en ortofosfatos, fosfatos condensados y fosfatos orgánicos. (IDEAM, 2007).

El Fósforo (P) inorgánico disuelto, en forma de ortofosfatos, es utilizado fácilmente por los productores primarios y, por lo tanto, es la principal forma biodisponible de P, pero algunos P orgánicos también se encuentran y pueden ser utilizados por las especies. El fraccionamiento y la especiación del fósforo son, por lo tanto, factores importantes al considerar el impacto del elemento en la calidad del agua. En El fósforo de las aguas naturales se puede encontrar en varias formas "disueltas" principalmente como inorgánico, ortofosfatos y condensados o poli fosfatos, pero también como fosfatos orgánicos (ácidos nucleicos, proteínas, fosfolípidos, fosfoamidas, fosfatos de azúcar, fosfatos de inositol, amino fosfonatos y pesticidas orgánicos de fósforo) (Worsfold, McKelvie, & Monbet., 2016).

De esta manera se puede decir que el fósforo es una fuente contaminación para los cuerpos de aguas, por lo que es indispensable identificar las proporciones en la que este parámetro está presente en los cuerpos de aguas y determinar si cumple con los valores límites.

En este proceso se validó la metodología para la determinación de fósforo total y ortofosfatos en agua natural , potable y residual en las instalaciones del Laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA Regional córdoba ya que la política de este laboratorio indica que todas las actividades que se desarrollan en este laboratorio deben cumplir con los lineamientos de un sistema de gestión de calidad el cual debe estar ajustado a la norma NTC/ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos Generales Para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración” (Numeral 5.4.5), teniendo como finalidad la prestación de servicios con ciertos criterios de calidad, lo cual se demuestra generando datos confiables.

Parte del trabajo involucrado en la recolección de datos confiables será usar métodos estandarizados y validados. Dado que el laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA Regional - Córdoba está en proceso de acreditación será necesario ofrecer servicios en parámetros como lo es el análisis de fósforo total y ortofosfatos en aguas residuales, agua potable y agua natural, y de esta manera ampliar las posibilidades analíticas a través de la validación de técnicas nuevas para el laboratorio, que brinden principalmente mayor rapidez y ampliación de los rangos de trabajo.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes**

Algunos laboratorios de análisis de aguas de diferentes universidades y empresas realizan procesos de validación para así adecuar los procesos a las condiciones necesarias de análisis en sus laboratorios, entre ellos tenemos los procesos de validación llevados a cabo en las siguientes universidades.

- La Universidad de Cartagena se validó la metodología analítica para la determinación de fosfato en agua potable por espectrofotometría ultravioleta -visible- método del azul de molibdeno con ácido ascórbico, en la cual esta investigación se basa principalmente en el uso de la metodología propuesta por el IDEAM, El proceso de validación como el desarrollo de los procedimientos analíticos, se realizaron con el fin de cumplir con los requisitos técnicos señalados en la Norma ISO/IEC: 17025 para la acreditación de los Laboratorios UTP (Mercado-Camargo, 2017)
- En la Universidad Tecnológica de Pereira se validaron las técnicas de hierro total y fosfatos en agua en el laboratorio ALISCCA LTDA., donde se determinación de fosfatos por la técnica de Denigé o de azul de molibdeno en agua potable. Obteniendo un porcentaje de recuperación alto y que se encuentra dentro de los rangos establecidos por la AOAC. (Sanchez-Salazar, 2011)
- En la Universidad de Córdoba en convenio con el laboratorio de calidad de agua de la CVS (Corporación Autónoma Regional de los Valles del Sinú y San Jorge) se realizó la validación de los métodos analíticos para la determinación de fósforo total e hierro total en

aguas naturales y residuales mediante la técnica espectrofotométrica de absorción molecular tomando como referencia los métodos 4500-P E y 3500-Fe D, propuestos por el estándar método edición 21, para fósforo total e hierro respectivamente. La metodología usada para estos parámetros tanto en agua residual como en agua natural consistió en la formación del complejo azul de molibdeno por la reducción de ácido fosfomolibdico con ácido ascórbico, para fosfatos y el rojo- naranja entre la 1.10-fenantrolina y el  $\text{Fe}^{+2}$  para el hierro total. (Lopez-Lopez, 2008)

- En la Universidad de Córdoba en el laboratorio de aguas se validó el método para la determinación de fósforo total en agua potable por la técnica del ácido ascórbico. (Gomez-Garces, 2014)

## **2.2.Fósforo**

El fósforo es absolutamente esencial para todo organismo; interviene en el almacenamiento y transferencia de la energía en las células a través del ATP, la formación de los grupos fosfato de los nucleótidos en los ácidos nucleicos, principalmente. Al ser uno de los elementos minoritarios tanto en el universo inerte como vivo, por ello puede llegar a ser un nutriente limitante para la productividad primaria tanto en un cuerpo de agua y como en tierra (Mercado-Camargo, 2017). El fósforo se oxida rápidamente en las rocas terrestres como ortofosfato; en el agua también se lo encuentra como piro-meta- polifosfatos y ligado a moléculas compuestas orgánicas. Todas estas formas se presentan en solución, partículas o detritus. El orto fosfato (ácido fosfórico o normal) es muy soluble y es la fracción útil que absorben las plantas autótrofas. En los casos en que constituye el nutriente limitador del crecimiento, la descarga de aguas residuales brutas o tratadas (domiciliarios o industriales),

drenajes agrícolas arrastradas por el lavado de las lluvias a los cuerpos de agua tanto superficiales como profundos, pueden por un lado estimular el crecimiento de microorganismos acuáticos fotosintéticos en cantidades exageradas o, por otro lado contaminar las capas freáticas (Worsfold, McKelvie, & Monbet., 2016)

### **2.2.1. Generalidades.**

El fósforo es un elemento químico de número atómico 15 y símbolo P. Es un no metal multivalente perteneciente al grupo del nitrógeno (Grupo 15 (VA): nitrogenados) que se encuentra en la naturaleza combinado en fosfatos inorgánicos y en organismos vivos, pero nunca en estado nativo. Es muy reactivo y se oxida espontáneamente en contacto con el oxígeno atmosférico emitiendo luz (Behran, 1996). Se relaciona directamente con todas las reacciones de transferencia de energía que ocurren en los seres vivos. En los seres humanos el fósforo actúa como parte estructural de fosfolípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos, así como en varias rutas metabólicas (Rodriguez & Simon, 2008)

### **2.2.2. El fósforo y el medio ambiente.**

Una vez en el suelo, el fósforo se almacena, principalmente en forma de compuestos inorgánicos con hierro, aluminio y calcio, o en formas orgánicas en microorganismos, residuos de cosecha y material en descomposición (McDowell & Condron, 2007).

La transferencia de fósforo del suelo a las fuentes de agua se da principalmente a través del agua de escorrentía, específicamente como fósforo adherido a partículas de compuestos minerales y como fósforo inorgánico disuelto, siendo la primera, la forma predominante que se da en la mayoría de tierras agrícolas (Sharpley, Smith, Jones, Berg, & Coleman, 1992). La entrada de fósforo a los cuerpos de agua superficiales puede resultar en eutrofización. El fósforo es a menudo el nutriente limitante en sistemas acuáticos, lo mismo que en suelos

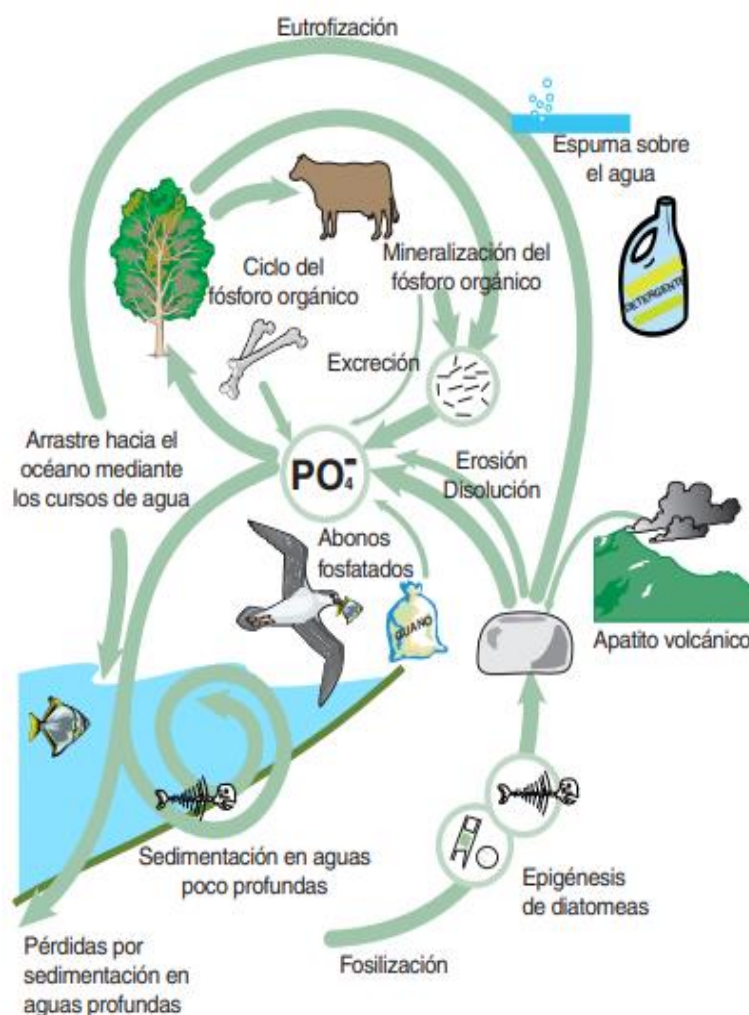
poco fértiles, con la diferencia de que los sistemas acuáticos tienen una baja capacidad amortiguante o habilidad para almacenar dicho elemento. Cuando el fósforo entra a lagos, ríos o riachuelos, el crecimiento de algas y otros microorganismos acuáticos se estimula. La descomposición de algas consume el oxígeno disuelto y cuando el oxígeno disuelto es escaso o se agota, los organismos aeróbicos del ecosistema se ven afectados y comienzan a morir. Cuando la tasa de muerte de estos organismos aumenta, la demanda por el oxígeno en el sistema aumenta aún más. Mayores tasas de mortalidad tendrán como resultado una mayor demanda de oxígeno necesario para la descomposición hasta que eventualmente llega a ser limitante. Cuando esto sucede, el sistema pasa de ser un sistema aeróbico a uno anaeróbico (Knowlton et al. , 2001; Walker, 2000; Sharpley et al., 1992). Otros problemas comunes asociados con cuerpos de agua eutrofizados son: un uso recreacional restringido, efectos negativos en la salud por el consumo del agua y un incremento en el costo para el tratamiento de las mismas (Van Horn et al, 1991; Walker, 2000).

### **2.2.3. Ciclo del fósforo.**

El ciclo del fósforo tiene como particularidad no poseer ninguna etapa atmosférica, es sedimentario. La reserva de fósforo en los ecosistemas son las rocas, donde dicho elemento se encuentra enlazado con oxígeno en forma de fosfato. El fósforo está en la naturaleza en los minerales del grupo de fosfatos, en los sedimentos oceánicos ricos en restos de seres vivos y en los depósitos de guano o sedimentos formados por excrementos de aves marinas.

Los animales obtienen el Fósforo como fosfato inorgánico del agua que beben y como fosfatos orgánicos e inorgánicos de los alimentos. Las plantas toman el fósforo como fosfato inorgánico, que se transforma en compuestos orgánicos.

El ciclo del fósforo no es completamente equilibrado. Los fosfatos son llevados al fondo del mar como sedimentos, más rápidamente de lo que lo hacen los animales marinos y son depositados en el fondo marino, de donde el ser humano y otros animales lo toman al ingerir alimentos marinos. El fosfato se excreta o regresa a la tierra y al agua por la acción de las bacterias descomponedoras, de donde vuelve a ser usado por los productores, y luego se incorpora a las rocas (Monge-Nájera, 2002).



(Pabón & Chaparro, 2001)  
**Figura 1.** Ciclo del fósforo.



#### 2.2.4. **Presencia de Fósforo.**

El fósforo puede ser encontrado en el ambiente más comúnmente como fosfato. Los fosfatos son sustancias importantes en el cuerpo de los humanos porque ellas son parte del material de ADN y tienen parte en la distribución de la energía. Los fosfatos pueden ser encontrados comúnmente en plantas. Los humanos han cambiado el suministro natural de fósforo radicalmente por la adición de estiércol ricos en fosfatos. El fosfato era también añadido a un número de alimentos, como quesos, salsas, jamón. Demasiado fosfato puede causar problemas de salud, como es daño a los riñones y osteoporosis. La disminución de fosfato también puede ocurrir. Estas son causadas por uso extensivo de medicinas. Demasiado poco fosfato puede causar problemas de salud (Severiche-Sierra et al, 2012).

Los fosfatos también estimulan el crecimiento de las algas lo que puede ocasionar un crecimiento rápido de las algas. Los crecimientos rápidos de algas se pueden reconocer con facilidad como capas de limón verde y pueden eventualmente cubrir la superficie del agua. Al crecer las plantas y las algas, ahogan a otros organismos. Estas grandes poblaciones de plantas producen oxígeno en las capas superiores del agua, pero cuando las plantas mueren y caen al fondo, son descompuestas por las bacterias que usan gran parte del oxígeno disuelto (OD) en las capas inferiores. Las masas de agua con altos niveles de fosfato generalmente tienen niveles altos de Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) debido a las bacterias que consumen los desechos orgánicos de las plantas (Records et al, 2016).

El fósforo se encuentra en las aguas naturales y residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos, clasificados en ortofosfatos, fosfatos condensados piro, meta y otros poli-fosfatos, y los ligados orgánicamente. Se presentan en solución, partículas o detritus, o en los cuerpos de organismos acuáticos.

Estas formas del fosfato surgen de una diversidad de fuentes. Cantidades pequeñas de algunos fosfatos condensados se añaden a algunos suministros de agua durante el tratamiento, y se pueden añadir cantidades mayores de los mismos compuestos cuando el agua se utiliza para lavar ropa u otras limpiezas, ya que son los componentes principales de muchos preparados comerciales para la limpieza. Los fosfatos se utilizan ampliamente en el tratamiento de aguas de calderas. Los ortofosfatos aplicados como fertilizantes a la tierra cultivada agrícola o residencial son arrastrados a las aguas superficiales con las lluvias y, en menor proporción, con la nieve derretida. Los fosfatos orgánicos se forman principalmente en procesos biológicos. Son aportados al alcantarillado por los residuos corporales y de alimentos y también se pueden formar a partir de los ortofosfatos durante los procesos de tratamiento biológico o por recibir la carga biológica del agua (APHA, AWWA, & WEF, 2017).

El fósforo es esencial para el crecimiento de los organismos y puede ser el nutriente limitador de la productividad primaria de un cuerpo en el agua. En los casos en que constituye el nutriente limitador del crecimiento, la descarga de aguas residuales brutas o tratadas, drenados agrícolas o ciertos residuos industriales a esa agua puede estimular el crecimiento de micro y macro organismos acuáticos fotosintéticos en cantidades molestas.

Los fosfatos pueden aparecer también en los sedimentos de fondos y en cienos biológicos, tanto en formas inorgánicas precipitadas como incorporados a compuestos orgánicos (Romero-Rojas, 2002)

## **2.3.Marco Legal**

### **2.3.1. Normatividad.**

Acreditación de laboratorios de ensayo se concede en base al cumplimiento de la norma NTC/ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”. Esta menciona acerca de la validación de los métodos (Numeral 5.4.5) lo siguiente:

**Numeral 5.4.5.1** La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto (Icontec, 2005).

**Numeral 5.4.5.2** El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto. La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y una declaración sobre la aptitud del método para el uso previsto (Icontec, 2005).

**Numeral 5.4.5.3** La gama y la exactitud de los valores que se obtienen empleando métodos validados (por ejemplo, la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad y/o de reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto de ensayo) tal como fueron fijadas para el uso previsto, deben responder a las necesidades de los clientes (Icontec, 2005).

Estimación de la incertidumbre de la medición (Numeral 5.4.6)

**Numeral 5.4.6.2** Los laboratorios de ensayo deben tener y deben aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición. En algunos casos la naturaleza del método de ensayo puede excluir un cálculo riguroso, metrológica y estadísticamente válido, de la incertidumbre de medición. En estos casos el laboratorio debe, por lo menos, tratar de identificar todos los componentes de la incertidumbre y hacer una estimación razonable, y debe asegurarse de que la forma de informar el resultado no dé una impresión equivocada de la incertidumbre. Una estimación razonable se debe basar en un conocimiento del desempeño del método y en el alcance de la medición y debe hacer uso, por ejemplo, de la experiencia adquirida y de los datos de validación anteriores (Icontec, 2005).

**Numeral 5.4.6.3** Cuando se estima la incertidumbre de la medición, se deben tener en cuenta todos los componentes de la incertidumbre que sean de importancia en la situación dada, utilizando métodos apropiados de análisis (Icontec, 2005).

## **2.4. Determinación De Fósforo Soluble**

El fósforo disuelto en el agua puede estar en forma orgánica e inorgánica. Esta última constituye la fracción biológicamente disponible para los productores primarios. El fósforo inorgánico disuelto en agua se encuentra, fundamentalmente, como Ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Esta fracción es también denominada, por su reacción con el molibdeno, fósforo reactivo soluble. Así, se habla de la determinación de ortofosfato, fósforo soluble o fósforo reactivo soluble indistintamente, para hacer referencia al fósforo directamente disponible en el medio (Gutiérrez, 1994).

Dado que el fósforo se puede presentar en combinación con materia orgánica, se debe implementar un método de digestión que permita convertir el fósforo presente en una

muestra de agua a fósforo disuelto, es por esto que para determinar Fósforo Total se debe utilizar un mecanismo de digestión que pueda ser capaz de oxidar la materia orgánica eficazmente para liberar el fósforo como Ortofosfatos. (APHA, AWWA, & WEF, 2017).

## **2.5. Determinación De Fosforo Soluble Por El Método Del Ácido Ascórbico.**

### **2.5.1. Principio del método**

El Método Del Ácido Ascórbico es un método espectrofotométrico que se basa en la determinación de fósforo en forma de Ortofosfatos (fósforo soluble) en muestras de agua mediante la formación del complejo de Azul de Molibdeno, este método considera dos pasos generales, la conversión de la forma de fósforo de interés a Ortofosfatos disuelto, y determinación colorimétrica del Ortofosfatos disuelto.

El molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio reaccionan en medio ácido con el Ortofosfatos para formar un heteropoliácido -ácido fosfomolibdico- que es reducido por ácido ascórbico a un complejo azul de molibdeno intensamente coloreado; sólo las formas de Ortofosfatos forman dicho color azul en esta prueba (IDEAM, 2006).

### **2.5.2. Interferencia del método**

Los arseniatos reaccionan con el reactivo de molibdato y producen un color azul similar al formado con el fosfato. Concentraciones de arseniato tan bajas como 0.1 mg As/L interfieren en la determinación de fosfato. El cromo hexavalente y  $\text{NO}_2^-$  interfieren y dan resultados un 3 por 100 más bajos a concentraciones de 1 mg/L, y del 10 al 15 por 100 más bajos a la de 10 mg/L. Sulfuro ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) y silicato no interfieren a concentraciones de 1.0 y 10 mg/L (IDEAM, 2006).

### 2.5.3. La concentración mínima detectable.

La concentración mínima detectable es aproximadamente 10  $\mu$  g P/L. Los rangos de P son los siguientes:

**Tabla 1.** Rangos de detección de fósforo

Rango aproximado de P mg/L	Recorrido de la luz Cm
0.30-2.0	0.5
0.15-1.30	1.0
0.01-0.25	5.0

(APHA, AWWA, & WEF, 2017)

### 2.6. Espectrofotometría Ultravioleta –Visible

La espectrofotometría de absorción ultravioleta-visible fue uno de los primeros métodos físicos que se aplicó al análisis cuantitativo y a la determinación de estructuras. La espectrofotometría ultravioleta-visible supera al resto de los métodos ópticos de análisis en lo referente al análisis cuantitativo y es también una técnica auxiliar para la elucidación de estructuras (Olsen, 1990).

La espectrofotometría de absorción ultravioleta-visible implica la medida de la fracción de luz de una longitud de onda dada que pasa a través de una muestra. La muestra (como solución coloreada) no emite luz por sí misma, por lo que se debe incluir una fuente de radiación.

Para los análisis, se hacen dos medidas de la cantidad de luz absorbida. En la primera se mide la cantidad de luz (a la longitud de onda elegida) que llega al transductor, cuando se coloca

un blanco. Se denomina intensidad  $P_0$  del blanco, es cuando la concentración del material analizado es cero.

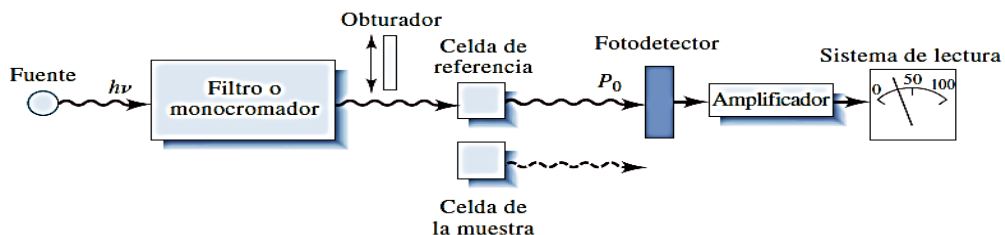
La medida final se obtiene comparando la medida de las muestras o los patrones de calibración con la medida del blanco. Llamamos  $P$  a la intensidad que se mide con las muestras o con el estándar. La comparación que siempre se hace implica la relación  $P/P_0$ , con ambas intensidades medidas en las mismas condiciones del instrumento-longitud de onda, geometría, etcétera.

Se utilizan tres términos para expresar la relación. El primero es simplemente la relación  $P/P_0$  y se denomina Transmitancia ( $T$ ), el segundo es el porcentaje de transmitancia ( $\%T = T * 100$ ) y el tercero es el logaritmo negativo de  $T$ , que se denomina Absorbancia ( $A$ ) (Rubinson & Rubinson, 2001).

La espectroscopia se basa en la medición de la transmitancia  $T$  o de la absorbancia  $A$  de soluciones que están en celdas transparentes que tienen una longitud de trayectoria de  $b$  cm. Normalmente, la concentración de un analito absorbente se relaciona en forma lineal con la absorbancia según la ley de Beer (Skoog, Holler, & Crouch., 2008).

$$A = -\log T = \log P_0/P = \epsilon bc \quad (1)$$

Los espectrofotómetros son equipos que tienen en su sistema un monocromador que permite la selección de la longitud de onda con una alta resolución. Los componentes principales de un espectrofotómetro se muestran en la siguiente figura.



(Skoog, Holler, & Crouch., 2008)

**Figura 2.** Diseños instrumentales de fotómetros o espectrofotómetros para la región UV-visible

## 2.7. Validación De Métodos Analíticos

Validar un método de análisis consiste en verificar y documentar su validez, esto es, su adecuación a unos determinados requisitos previamente establecidos. La definición de la norma NTC/ISO/IEC 17025:2005 es: “confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.

Los parámetros que permiten evaluar el rendimiento de un método son la exactitud, la precisión, la representatividad, la selectividad, la sensibilidad, los límites y la incertidumbre del método.

### 2.7.1. Límite de Detección.

El límite de detección se define a partir de la más pequeña cantidad detectable por encima del ruido de un procedimiento y dentro de un límite declarado de aceptación.

Se define el límite de detección del método (LDM), como la concentración mínima que puede ser medida con una exactitud y una precisión aceptables.



- Límite de detección instrumental (LDI) se define como la concentración de analito que produce una señal superior a cinco veces la relación señal/ruido del instrumento; se ha establecido en 1,645 veces el valor s de los análisis de blancos (IDEAM, 2006).

$$LDI=1,645*S \quad (2)$$

- Límite de detección del método (LDM) Se define como la concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco (IDEAM, 2006). El LDM corresponde a la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones experimentales establecidas y se expresa en unidades de concentración (% , ppm, ppb, etc.) (Ribera & Morales, 2012).

$$LDM=\frac{Y_{bl}+3*S_{bl}}{b} \quad (3)$$

Donde:

$Y_{bl}$  = valor promedio de la respuesta del blanco.

$S_{bl}$  = desviación estándar estimada del blanco

$b$  = pendiente de la curva de calibración.

### 2.7.2. Límite de cuantificación.

El límite de cuantificación es el nivel más bajo del analito que puede determinarse con un rendimiento aceptable ('Un rendimiento aceptable' es considerado diversamente por diferentes directrices para incluir precisión y veracidad, o la incertidumbre de medición). En

la práctica, sin embargo, LC se calcula por la mayoría de las convenciones siendo la concentración del analito correspondiente a la desviación estándar obtenida ( $S_0$ ) en niveles bajos, multiplicado por un factor,  $K_Q$ . El valor predeterminado de la IUPAC para  $K_Q$  es 10 y si la desviación estándar es aproximadamente constante a bajas concentraciones de este multiplicador corresponde a una desviación estándar relativa (RSD) del 10% (Eurolab, 2016).

$$LC = \frac{Y_{bl} + K_Q * S_{bl}}{b} \quad (4)$$

Donde:

$Y_{bl}$  = valor promedio de la respuesta del blanco.

$S_{bl}$  = desviación estándar estimada del blanco

$b$  = pendiente de la curva de calibración.

### 2.7.3. Linealidad.

La linealidad es la capacidad de un método de análisis, dentro de un determinado intervalo, de dar una respuesta o resultados instrumentales que sean proporcionales a la cantidad del analito que se habrá de determinar en la muestra.

Con el fin de determinar el rango lineal se puede realizar mediante un gráfico de concentración versus respuesta, que se conoce como Función Respuesta. Esta se establece cada día con una cierta cantidad de valores formados por un blanco y los patrones de trabajos limpios de valor teórico conocido, que cubran el intervalo de trabajo. En este sentido se

recomienda abarcar valores desde cercano al cero y valores superiores al LMP o al valor de interés. El número de puntos a analizar deberá ser establecido por el analista.

Luego de realizar el grafico se puede observar el comportamiento de la curva y establecer cualitativamente el rango lineal. Después de establecer el comportamiento lineal del método se deberá realizar la Curva de trabajo o curva de calibración. Se grafican los datos de concentración de los estándares de calibración estimados (X) v/s la lectura observada (Y). (Instituto de Salud Publica, 2010) .

Se refiere a la proporcionalidad entre la concentración y la señal producida por el instrumento y se debe verificar si en el laboratorio se cumple el intervalo y tipo de linealidad que reporta la literatura del método (IDEAM, 2006).

#### ***2.7.3.1.Rango lineal.***

Se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito para el cual se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método descrito. Aunque el proceso lógico consistiría en evaluar cuáles son los límites de concentración en los que el método analítico pierde su linealidad normalmente se toma como punto de partida un intervalo de concentraciones ya establecido de acuerdo con la experiencia, el conocimiento analítico de la técnica empleada y principalmente en el uso de las especificaciones. Para evaluar la linealidad existen unos criterios mínimos aplicables a cualquier procedimiento.

- Dentro del rango establecido se recomienda estudiar al menos 4 niveles de concentración.
- Para realizar los análisis se recomienda hacer pesadas independientes, ya que así se elimina el posible error sistemático que se podría arrastrar partiendo de una pesada y realizando diluciones (IDEAM, 2006).

### ***2.7.3.2. Ecuación de la recta.***

En la recta de regresión  $y=m*x+b$ , **x** es la concentración, **y** es la respuesta, **m** el valor de la pendiente y, **b** es el término independiente.

La pendiente **m** se encuentra relacionada con la sensibilidad del método de forma que a mayor pendiente mayor sensibilidad. El término independiente **b**, u ordenada en el origen, es la intersección de la recta con el eje de ordenadas y es indicativo del error sistemático, no difiriendo estadísticamente de cero en caso de no existir sesgo (Dosal & Villanueva-Marzo, 2008).

### ***2.7.3.3. Coeficiente de correlación y coeficiente de determinación.***

El coeficiente de correlación indica el grado entre la variable x – concentración, y la variable y – respuesta. Si valor máximo es 1. Si r es cercano a la unidad significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Un valor nulo indica ausencia de relación lineal entre las variables.

El valor recomendable para el coeficiente de correlación es  $\geq 0.999$  aunque en el caso de impurezas se admite  $\geq 0.990$ .

La información obtenida mediante el cálculo de r es limitada y no justifica por si sola la linealidad, siendo  $r^2$  coeficiente de determinación el que aporta una mayor significación estadística, ya que expresa la proporción de la variación total de y explicada por el modelo.

El valor recomendable para el coeficiente de determinación es  $\geq 0.99$ .

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}} \quad (5)$$

$$r^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})^2 (y - \bar{y})^2}{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2} \quad (6)$$

#### **2.7.3.4. Varianza residual constante (homocedasticidad).**

Las varianzas de la variable dependiente en los grupos que se comparan deben ser aproximadamente iguales. Por ello uno de los pasos previos a la comprobación de la existencia de diferencias entre las medias de varias muestras es determinar si las varianzas en tales muestras son iguales, es decir, comprobar si se cumple la condición de homogeneidad de varianzas, ya que del cumplimiento de esta condición dependerá la formulación que empleemos en el contraste de medias. Existen varias pruebas que permiten comprobar la igualdad de varianzas (F de Fisher, Fmax de Hartley, prueba de Bartlett, etc.) (Hurtado & Silvente, 2012).

Para aplicar el Test de homocedasticidad se considera que la varianza es constante en los diferentes niveles de un factor, este se representa usando cada uno de los residuales (eje de ordenadas) frente a los valores estimados (eje de abscisas). La distribución de los puntos de la gráfica debería ser aleatoria y no reflejar ninguna tendencia.

$$\text{Valor estimado: } \hat{y} = m \cdot x_i + b \quad (7)$$

$$\text{Valor residual: } e_i = \hat{y} - y_i \quad (8)$$

Donde:

$e_i$ : Valor de los residuales

$\hat{y}$ : Valor estimado para  $x_i$

#### **2.7.3.5. Análisis de varianza: ANOVA.**

Para poder realizar un ANOVA se deben cumplir los siguientes supuestos:

- Homogeneidad de varianzas
- Normalidad de los residuales

#### **2.7.3.6. Homogeneidad de varianzas.**

La homogeneidad de variancias se puede comprobar aplicado un test de *Cochran* que indicara si el factor concentración tiene alguna influencia en la variabilidad de los resultados.

El valor de  $G_{exp}$  se calcula de la siguiente forma:

$$G_{exp} = \left( \frac{s^2_{max}}{\sum s_i^2} \right) \quad (9)$$

Dónde:

$S^2_{max}$ : mayor varianza en la curva de calibrado.

$\Sigma s_i^2$ : suma de varianzas de todos los puntos de la curva de calibrado.

#### **2.7.3.7. Normalidad de Residuales.**

La normalidad de los residuales se puede comprobar mediante la representación gráfica que algunos programas estadísticos realizan de los mismos o bien aplicando un test de normalidad.

Una vez comprobada estos supuestos, se calcularán los estadísticos  $F_1$  y  $F_2$ .

$F_{1exp} > F_{1tablas}$  demuestra la existencia de una pendiente distinta de cero.

$F_{2exp} < F_{2tablas}$  demuestra la linealidad entre los resultados obtenidos.

Los valores tabulados de  $F$  se obtienen de las tablas estadísticas de acuerdo con los grados de libertad correspondientes y un grado de significación  $\alpha$  normalmente igual a 0.05.

#### ***2.7.3.8. Coeficiente de variación de del factor respuesta (f).***

El factor de respuesta (f) expresa la relación entre la lectura o respuesta y la concentración. En una calibración lineal los factores de respuesta deben ser semejantes entre sí y cercanos al valor de la pendiente. Valores del coeficiente de variación superiores al 5% serian indicativos de una falta de linealidad, siendo recomendables valores menores o iguales al 2%.

El coeficiente de variación de los factores de respuesta se evalúa mediante la siguiente ecuación.

$$CV = \frac{sf}{f} * 100 \quad (10)$$

Dónde:

**S<sub>f</sub>**: desviación estándar de los factores respuesta

f: promedio de los factores respuesta

#### ***2.7.3.9. Significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente.***

Se trata de comprobar que existe una pendiente significativamente distinta de cero mediante una prueba de *T* de *Student*. Para un grado de significación  $\alpha$  igual a 0.05.

$$t_{\text{exp}} = \frac{|b|}{S_b} \quad (11)$$

Donde:

b: Valor de la pendiente de la curva de calibración.

S<sub>b</sub>: Desviación estándar de la pendiente.

$$S_b = \sqrt{S_b^2} \quad (12)$$

Donde:

$S_b^2$ : Varianza de la pendiente.

$$S_b^2 = \frac{S_{y,x}^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \quad (13)$$

Donde:

$S_{y,x}^2$ : Varianza residual

$$S_{y,x}^2 = \frac{\sum e_i^2}{n-2} \quad (14)$$

Donde:

$e_i^2$ : Valor residual

La pendiente tiene que ser estadísticamente distinta de cero para un grado de significación  $\alpha$  igual a 0,05.

#### **2.7.3.10. Sensibilidad.**

Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración. Normalmente se mide como la pendiente de la curva de calibración. Como valor se puede reportar el promedio para las curvas obtenidas en los ensayos de estandarización y en la medición de muestras, indicando su desviación estándar (IDEAM, 2006).



#### **2.7.3.11. Intervalo lineal.**

Intervalo de la concentración superior e inferior del analito, sobre el cual el método produce resultados proporcionales a la misma (IDEAM, 2006).

#### **2.7.3.12. Intervalo de trabajo o de lectura directa.**

Intervalo de concentración donde actúa el método en cuestión, sin ninguna dilución. Debe estar incluido en el rango lineal (IDEAM, 2006).

#### **2.7.3.13. Intervalo de aplicación del método**

Intervalo de concentración para el método incluyendo la mayor dilución permitida para una muestra. En general se acepta hasta una dilución de cien veces, a menos de que el método no lo permita (IDEAM, 2006).

#### **2.7.4. Exactitud.**

La exactitud se define como la proximidad entre el valor medio obtenido de un conjunto de resultados y el valor de referencia aceptado; normalmente se expresa en términos de error. Se tendrán como referencia los PATRONES preparados en el laboratorio, y por lo menos un patrón externo CERTIFICADO. La concentración de estos patrones deberá estar localizada dentro del rango de aplicación del método (IDEAM, 2006).

La exactitud se expresa como porcentaje de error cuando se trabaja con réplicas de estándares y como porcentaje de recuperación para muestras fortificadas.

El porcentaje de error se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{Error} = \frac{X_{\text{exp}} - X_{\text{teórica}}}{X_{\text{teórica}}} * 100\% \quad (15)$$

Dónde:

$X_{\text{exp}}$ : Concentración experimental de la solución

$X_i$ : Concentración teórica de la solución

La exactitud expresada como porcentaje de recuperación, que es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra. Se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rec} = \frac{X_{\text{adicionado}} - X_{\text{muestra}}}{X_{\text{estándar}}} * 100\% \quad (16)$$

Dónde:

$X_{\text{adicionado}}$ : Concentración de la muestra con el adicionado

$X_{\text{muestra}}$ : Concentración de la muestra sin adicionado

$X_{\text{muestra}}$ : Concentración del estándar adicionado

La AOAC propone una serie de valores límites de porcentaje de recuperación en función de la concentración del analito los cuales se resumen en la siguiente tabla.

**Tabla 2.** Recuperación esperada en función de la concentración del analito

% Analito	Relación	Unidades	R (%)
10	$10^{-1}$	10%	98-102
1	$10^{-2}$	1%	98-102
0.1	$10^{-3}$	0.1%	97-103
0.01	$10^{-4}$	$100\text{mgL}^{-1}$	95-105
0.001	$10^{-5}$	$10\text{mgL}^{-1}$	90-107

0.0001	$10^{-6}$	$1\text{mgL}^{-1}$	80-110
0.00001	$10^{-7}$	$100\text{ }\mu\text{gL}^{-1}$	80-110
0.000001	$10^{-8}$	$10\mu\text{gL}^{-1}$	60-105
0.0000001	$10^{-9}$	$1\mu\text{gL}^{-1}$	40-120

(AOAC, 2016)

#### 2.7.5. Precisión.

- La precisión es la medida de cuán cerca o dispersos están los resultados uno de otros, depende exclusivamente de la dispersión del error aleatorio y varía inversamente a éste. La precisión es una propiedad cualitativa y no tiene valor numérico por lo que la variabilidad debido a fluctuaciones aleatorias se cuantifica mediante otro concepto distinto: la imprecisión del procedimiento de medida. La imprecisión es la desviación típica P, la varianza o el coeficiente de variación de un conjunto de mediciones de una magnitud bajo las condiciones especificadas (Sandoval, 2010).
- **Repetibilidad:** Grado de concordancia entre los resultados de las mediciones sucesivas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición; es la medida de la variabilidad de los resultados cuando el método es aplicado por un solo analista, con un mismo equipo, en corto período de tiempo (Sandoval, 2010).
- **Reproducibilidad:** Grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mensurado efectuadas bajo condiciones de medición modificadas. Es el caso al realizar diversas réplicas en diversos días cambiando instrumento, analista e incluso el laboratorio (Sandoval, 2010).

Usualmente la precisión se expresa en términos de la desviación estándar (s) (IDEAM, 2006), o con la desviación estándar relativa o coeficiente de variación (CV), que se calcula con la siguiente ecuación:

$$\% CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100\% \quad (17)$$

Dónde:

s: Desviación estándar de las concentraciones de las soluciones

$\bar{x}$ : Promedio de las concentraciones de las soluciones (Molina, 2012.)

#### **2.7.6. Incertidumbre.**

La incertidumbre es un intervalo asociado con un resultado de medida que expresa el intervalo de valores que razonablemente pueden atribuirse a la cantidad que se está midiendo. Una estimación de la incertidumbre debe tener en cuenta todos los efectos reconocidos que operan en el resultado. Las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan de acuerdo con procedimientos bien establecidos.

Se describen varios enfoques para obtener una estimación de la incertidumbre de los resultados de las mediciones químicas estos tienen en cuenta:

- La precisión a largo plazo global del método (es decir, la precisión intermedia o la reproducibilidad)
- El sesgo y su incertidumbre, incluyendo la incertidumbre estadística que corresponde a las medidas de exactitud, y la incertidumbre en el valor de referencia
- La calibración de equipos. Las incertidumbres asociadas con la calibración de equipos tales como balanzas, termómetros, pipetas y frascos son a menudo

insignificantemente pequeña en comparación con la precisión global y la incertidumbre en el sesgo. Si esto se puede verificar entonces las incertidumbres de calibración no necesitan ser incluidas en la estimación de la incertidumbre

Cualquier efecto significativo que opera además de lo anterior. Por ejemplo, los intervalos de temperatura o el tiempo permitidos por el método no pueden ejecutarse plenamente en los estudios de validación, y sus efectos pueden necesitar ser añadidos. Tales efectos pueden ser útilmente cuantificados mediante estudios de robustez

Cuando la contribución de los efectos individuales es importante, por ejemplo, en los laboratorios de calibración, será necesario tener en cuenta las contribuciones individuales de todos los efectos individuales por separado la desviación estándar de reproducibilidad configura una estimación de trabajo de la incertidumbre típica combinada siempre que el sesgo del laboratorio, medido en los materiales aplicables, es pequeño con respecto a la desviación estándar de la reproducibilidad, la repetibilidad interna es comparable con la repetibilidad del método estándar, y la precisión intermedia del laboratorio no es mayor que la desviación estándar de la reproducibilidad publicada (Eurolab, 2016).

#### ***2.7.6.1. Tipos de incertidumbre.***

- **Tipo A:** Componentes que pueden ser evaluados a partir de distribuciones estadísticas de series de resultados que pueden caracterizarse por desviaciones estándar.
- **Tipo B:** Pueden caracterizarse también por desviaciones estándar, pero se evalúan a partir de distribuciones de probabilidad supuestas, basadas en la experiencia o en otro tipo de información.

- **Incertidumbre combinada (A, B):** Se plantea cuando la magnitud a medir depende de otra o varias magnitudes (medidas indirectas), por lo que la incertidumbre de la variable a medir depende de la de otros parámetros ya que medido de forma directa o indirecta. Para que sea aplicable la teoría que va a exponerse, es necesario que todas las medidas se realicen con las mismas condiciones, por lo que debe utilizarse el mismo instrumento y escala para medir una magnitud dentro de todo el proceso experimental, igualmente en lo posible mantener las condiciones ambientales estables, así como cualquier otro factor que pueda afectar la medición.
- **Incertidumbre expandida (U):** Proporciona un intervalo en el cual el valor de la medida es determinado con un alto nivel de confianza. (U) es obtenida por el producto de la incertidumbre estándar combinada con un factor de cobertura K. El valor del factor k está basado en el nivel de confianza requerido. Para un nivel de confianza aproximadamente del 95%, k es 2.

El factor de cobertura k, depende del nivel de confianza requerido para la mayoría de los propósitos se recomienda k igual 2. Sin embargo, este valor puede ser insuficiente cuando la incertidumbre combinada está basada en observaciones estadísticas con pocos grados de libertad. La escogencia de este factor depende del número de grados de libertad efectivos (Miller & Miller, 2002).

La incertidumbre combinada está dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{U_o}{C_i} = \sqrt{\left[\frac{U_a}{a}\right]^2 + \left[\frac{U_b}{b}\right]^2 + \left[\frac{U_c}{c}\right]^2 + \left[\frac{U_d}{d}\right]^2} \quad (18)$$

$$U_C = U * C \quad (19)$$

Dónde:

$U_a, U_b, U_c \dots U_n$ , corresponden a la incertidumbre o tolerancia de cada una de las fuentes involucradas en el cálculo de la incertidumbre  $a, b, c \dots n$  corresponden a las magnitudes de dichas fuentes de incertidumbre y  $C_i$  corresponde a la concentración para la cual se está determinando la incertidumbre.

La incertidumbre expandida está dada por:

$$U = K * U_C \quad (20)$$

Dónde:

$K$  es el factor de cobertura y  $U_c$  es la incertidumbre combinada

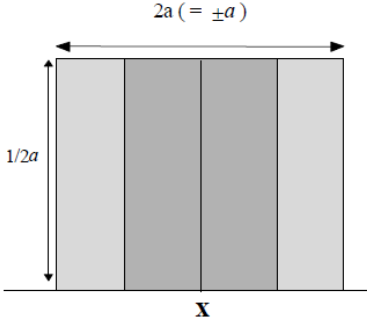
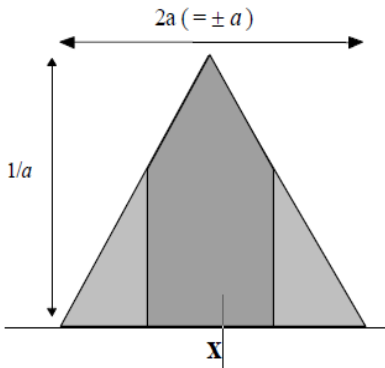
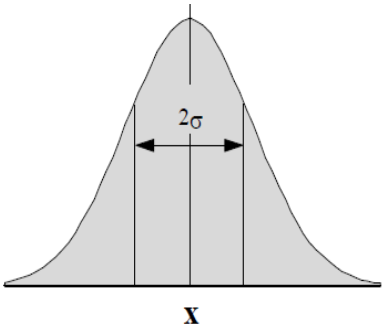
#### ***2.7.6.2. Identificación de las fuentes de incertidumbre.***

Una vez determinado el principio, el método y el procedimiento de medición, se identifican las posibles fuentes de incertidumbre. Este listado se puede representar gráficamente, y dicha representación procurará identificar las principales fuentes de incertidumbre disminuyendo el riesgo de omitir o discriminar estas, que sean importantes para la estimación de la incertidumbre. Para tal efecto es recomendable realizar un diagrama de causa y efecto (también conocidos como diagramas de Ishikawa o espina de pescado).

#### ***2.7.6.3. Funciones de distribución.***

La tabla siguiente muestra cómo calcular la incertidumbre estándar a partir de los parámetros de las dos funciones de distribución más importantes, y da una indicación de las circunstancias en que debe ser usada cada una de ellas

**Tabla 3.** Funciones de distribución de incertidumbre

Distribución Rectangular		
Forma	Usar cuando	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un certificado o alguna otra especificación da unos límites sin especificar el nivel de confianza.</li> <li>• Se ha hecho una estimación en forma de un rango máximo (<math>\pm a</math>) sin conocimiento de la forma de la distribución.</li> </ul>	$U(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$
Distribución Triangular		
Forma	Usar cuando	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La información disponible referida a <math>x</math> está más delimitada que en una distribución rectangular. Los valores cercanos a <math>x</math> son más probables que los próximos a los límites.</li> <li>• Se ha hecho una estimación en forma de un rango máximo (<math>\pm a</math>) descrito por una distribución simétrica.</li> </ul>	$U(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$
Distribución Normal		
Forma	Usar cuando	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se ha hecho una estimación a partir de observaciones repetidas en un proceso de variación aleatoria.</li> <li>• Se ha dado una incertidumbre en forma de una desviación estándar <math>s</math>, una desviación estándar relativa <math>s/\bar{x}</math>, o un porcentaje de coeficiente de variación <math>\%CV</math> sin especificar la distribución.</li> <li>• Se ha dado una incertidumbre en forma de</li> </ul>	$u(x) = s$ $u(x) = s$ $u(x) = x * (s/\bar{x})$ $u(x) = \frac{\%CV}{100} * x$ $u(x) = c/2$ (Para $c$ al 95%)



intervalo de confianza de un 95% (u otro)  $x \pm c$  sin especificar la distribución.

$$u(x) = c/3$$

(Para  $c$  al 99.7%)

(EURACHEM/CITAC, 2012)

#### ***2.7.6.4. Fuentes y valores comunes de incertidumbre.***

A continuación, se mostrarán los componentes de incertidumbre su causa y el método de como determinarlos; es decir; la manera de como cuantificar las fuentes de incertidumbre individuales aportadas por procedimientos analíticos comunes y la forma de combinar los factores para calcular la incertidumbre estándar de cada fuente.

##### *2.7.6.4.1. Incertidumbre asociada a la medición de masa o peso:*

Aplica para el pesaje de reactivos estándares usados en el método, que generalmente se hace por diferencia entre el peso bruto y el peso del recipiente en el cual se pesa el reactivo; en cada pesaje los factores a considerar, tanto en la tara como en el peso bruto, son:

- Incertidumbre en la calibración de la balanza: Que generalmente recomienda considerar una distribución rectangular para convertirla a incertidumbre estándar

$$U(m_L) = \frac{a_L}{\sqrt{3}} \quad (21)$$

- Resolución de la escala de la balanza: Variación entre lecturas (repetibilidad). Se estima a partir de la desviación estándar de ensayos de repetibilidad que pueden ser una serie de diez pesajes:

$$U(m_r) = S_{\text{ensayos}} \quad (22)$$

Desplazamiento diario, expresado como la desviación estándar de los valores de verificación diaria de la balanza a largo plazo.

Efectos de densidad en base convencional, causados por el efecto de desplazamiento del aire, generalmente no se consideran debido a que todos los resultados de pesaje están dados para peso en el aire y su efecto es insignificante. Efectos de densidad en base vacío, similar a los anteriores.

Como generalmente la pesada de reactivos se hace por diferencia, la contribución se debe contar dos veces, una por cada pesada. Las contribuciones más significativas se combinan para dar la incertidumbre estándar  $U(m)$  de la masa  $m$ , como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de cada contribución:

$$U(v)=\sqrt{2x(U(m_L)^2 + U(m_r)^2 + \dots)} \quad (23)$$

#### 2.7.6.4.2. Incertidumbre asociada a la medición del volumen

Esta fuente está sujeta a tres fuentes principales de incertidumbre:

- **Calibración** del volumen interno certificado del material, establecidas en las especificaciones dadas por el fabricante que se debe convertir a desviación estándar; si este no reporta un nivel de confianza o tipo de distribución para el volumen calibrado y su intervalo o tolerancia,  $a_v$ , se asume una distribución triangular (porque en un proceso productivo efectivo el valor nominal es más frecuente que los extremos).

$$U(v_c)=\frac{a_y}{\sqrt{6}} \quad (24)$$

- **Temperatura:** La diferencia entre la temperatura de preparación de la solución y la temperatura a la que fue calibrado el material causa diferencias de volumen; se calcula del intervalo estimado de temperatura del laboratorio,  $a_T$ , alrededor de 20°C (obtenida del monitoreo de condiciones ambientales), la incertidumbre estándar se calcula asumiendo una distribución rectangular para la variación de temperatura:

$$U(V_T) = \frac{V_{\text{material}} \times a_T \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \quad (25)$$

- **Variación en el llenado del material hasta el aforo.** Se calcula la desviación estándar a partir de ensayos de repetibilidad entre lecturas.

$$(u)(V_r) = S_{\text{ensayos}} \quad (26)$$

$V_r$ : medidas de volumen realizadas

Las tres contribuciones se combinan para dar la incertidumbre estándar  $u(V)$  del volumen  $V$ , como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de cada contribución:

$$u(V) = \sqrt{u(V_c)^2 + u(V_T)^2 + u(V_r)^2} \quad (27)$$

Si la temperatura promedio del laboratorio, difiere significativamente de la temperatura de calibración del material volumétrico, usualmente 20°C, se debe corregir el volumen realmente medido, a partir del volumen calibrado.

#### 2.7.6.4.3. Incertidumbre en la Preparación de Estándares

En la preparación de estándares o material de referencia se consideran como fuentes de incertidumbre las siguientes, que generalmente se cuantifican por separado:

- **La pureza del reactivo patrón**, P como fracción de masa ( $P = \%P/100$ ), es reportada por el fabricante usualmente con los límites,  $a_p$ , (intervalo de pureza) y para calcular la incertidumbre estándar  $u(P)$  se asume una distribución rectangular:

$$u(P) = \frac{a_p}{\sqrt{3}} \quad (28)$$

Concentración por diluciones de los estándares, debida a las diluciones del patrón para llegar a la solución de trabajo, se obtiene según el material volumétrico empleado.

La masa molar del patrón. Para los elementos que forman la sustancia patrón se toman los pesos atómicos reportados por la IUPAC y sus respectivas incertidumbres, que por definición tienen una distribución rectangular; las correspondientes incertidumbres estándar se obtienen dividiendo por  $\sqrt{3}$ . Para un patrón de formula molecular  $X_X Y_Y Z_Z$ .

$$u(M_{\text{Patrón}}) = \sqrt{\left[ \sum_{i=X}^{i=Z} \frac{u(i)}{\sqrt{3}} x_i \right]^2} = \sqrt{\left[ \frac{u(X)}{\sqrt{3}} X \right]^2 + \left[ \frac{u(Y)}{\sqrt{3}} Y \right]^2 + \left[ \frac{u(Z)}{\sqrt{3}} Z \right]^2} \quad (29)$$

#### 2.7.6.4.4. Incertidumbre asociada a la curva de calibrado.

La incertidumbre atribuida a la curva de calibrado puede hallarse con la siguiente ecuación:

$$u(c_o) = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} \frac{(C_o - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad (30)$$

En donde

p: Número de réplicas de concentraciones

m: Pendiente

S (desviación estándar residual) y  $S_{xx}$  se calculan usando las ecuaciones respectivamente:

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [A_i - (b + mC_i)]^2}{n-2}} \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2 \quad (31)$$

#### 2.7.6.5. *Calculo de la incertidumbre combinada.*

La cuantificación de los componentes de la incertidumbre consiste de un número de contribuciones a la incertidumbre global, ya sean asociadas con fuentes individuales o con los efectos combinados de varias fuentes. Estas contribuciones se expresan como desviaciones estándar y se combinan de acuerdo con las reglas apropiadas, para dar una incertidumbre estándar combinada. Finalmente, se aplica el factor de cobertura apropiado para obtener una incertidumbre expandida.

##### 2.7.6.5.1. *Incetidumbre estándar combinada*

La relación general entre la incertidumbre estándar combinada  $U_c$  (y) de un valor y y la incertidumbre de los parámetros independientes  $x_n$  de los cuales depende (y  $(x_n)$ ) es llamada la ley de propagación de incertidumbre:

$$U_c(Y(X_n)) = \sqrt{\sum_1^n C_i^2 U(X_i)^2} = \sqrt{\sum_1^n U(Y, X_i)^2} \quad (32)$$

##### 2.7.6.5.2. *La incertidumbre expandida*

La incertidumbre expandida  $U$  ( $C_x$ ) se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura  $k$ , dependiente de los grados de libertad, para obtener un intervalo en el cual se abarque una gran cantidad de la distribución de valores que puedan ser razonablemente atribuidos al mensurando; para la mayoría de los casos se utiliza  $k=2$  que equivale a un nivel de confianza de 95%:

$$U_c = 2 \frac{U_c(C_x)}{C_x} \quad (33)$$

Sin embargo, si la incertidumbre combinada se basa en observaciones estadísticas con pocos grados de libertad (menos de seis), se debe seleccionar el valor de  $k$  de acuerdo con los grados de libertad de una tabla  $t$  de Student de dos colas para el nivel de confianza requerido.

#### **2.7.6.6. Reporte de Incertidumbre.**

Cuando se reportan resultados de análisis de rutina suele ser suficiente indicar solamente el valor de la incertidumbre expandida y el valor de  $k$ . Los valores numéricos de los resultados se redondean de tal manera que sean consistentes con su incertidumbre, que casi nunca se reporta con más de dos cifras significativas.

- **Reporte de la incertidumbre expandida:** A menos que se requiera otra cosa, el resultado  $x$  debe ir acompañado de la incertidumbre expandida  $U$  calculada con un factor de cobertura  $k=2$ , así: “(Parámetro):  $x \pm U$  (unidad), la incertidumbre reportada se calculó con un factor de cobertura de 2”; opcionalmente se puede agregar “el cual corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente 95%”.
- **Reporte de la incertidumbre estándar:** Cuando la incertidumbre se expresa como la incertidumbre estándar combinada,  $U_c$ , se reporta como: “(Parámetro):  $x$  (unidad) con una incertidumbre estándar de  $U_c$  (unidad) que corresponde a una desviación estándar”.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo General**

Validar e implementar los métodos analíticos para la determinación de fósforo total y ortofosfatos en agua natural, potable y residual por el método del ácido ascórbico en el laboratorio de investigación y calidad ambiental del SENA-CCIT.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Estandarizar el método analítico para la determinación de Fósforo total y Ortofosfatos de acuerdo a la norma NTC: ISO/IEC17025:2005 en el LICAM SENA-CCIT.
- Determinar los parámetros estadísticos: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango lineal, precisión, exactitud y la incertidumbre, en la validación de los métodos para la determinación de fósforo total y ortofosfatos en el LICAM SENA-CCIT.

## 4. METODOLOGÍA

Para la validación de las metodologías analíticas para la determinación de Ortofosfatos y Fosforo Total, se siguió el procedimiento de control de calidad analítica utilizado en los métodos estandarizados publicados en el *standard methods* edición 23 del 2017. Este trabajo se realizó con el fin de optimizar las condiciones apropiadas para la determinación de Fósforo soluble en agua en el LICAM del SENA Regional–Córdoba, evaluando los parámetros de calidad los cuales fueron: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, precisión, exactitud, incertidumbre y porcentaje de recuperación.

### 4.1. Parte Experimental-Ortofosfatos

#### 4.1.1. Materiales, Equipos y Reactivos.

Los equipos utilizados de acuerdo al protocolo son:

- Espectrofotómetro visible *Thermo Scientific™ GENESYS™ 30*
- Balanza analítica *Citizen CX220*.
- Agitador magnético con plancha de calentamiento *Velp Scientifica F20510051*

Los materiales utilizados son:

- Transferpipetas 100 – 1000 µL *BRAND*.
- Transferpipetas 500 – 5000 µL *BRAND*.
- Transferpipetas 1000 – 10000 µL *BRAND*.
- Pipetas de 50 mL, clase A
- Matraces aforados de 50, 100, 250, 500, 1000 mL, clase A
- Erlenmeyers de 250 mL, clase A

Reactivos utilizados:



- Agua destilada
- Ácido sulfúrico,  $\text{H}_2\text{SO}_4$
- Tartrato de antimonio y potasio,  $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$
- Molibdato de amonio,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- Ácido ascórbico,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$
- Ácido sulfúrico,  $\text{H}_2\text{SO}_4$
- Solución Estándar de Fosfato 1000 mg/L trazable a NIST

#### **4.1.2. Muestreo y Preservación.**

Las muestras utilizadas se recolectaron en recipientes de vidrio ámbar sin adicionar ningún preservante, fueron refrigeradas inmediatamente. Las muestras recolectadas fueron filtradas con una membrana de  $0.45\mu\text{m}$  y analizadas en un tiempo menor a 48 horas. La toma de la muestra de agua potable se realizó en el corregimiento de Aguas Negras, Montería, la muestra de agua natural fue tomada del Caño el Purgatorio, punto barrio La Granja y la muestra de agua Residual fue tomada en la en la laguna de oxidación facultativa de Montería.

#### **4.1.3. Protocolo de Análisis**

Para realizar la determinación de Ortofosfatos por el método del ácido ascórbico se tuvieron en cuenta los criterios de análisis descritos por el *standars methods* edición 2017.

##### ***4.1.3.1. Procedimiento de preparación de estándares.***

- A partir del Estándar de fosforo se preparó un patrón de  $10 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ , del cual por dilución fue utilizado para preparar estándares de se prepararon estándares de las siguientes concentraciones 0.05, 0.08, 0.1, 0.3, 0.4, 0.5, 0.8,  $1 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}$ .
- Se realizaron los blancos reactivos usando agua destilada.

#### *4.1.3.1.1. Preparación de la curva de calibrado*

Se prepararon estándares en un intervalo de concentración entre 0.05-1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L y reactivos preparados, y luego se preparó el reactivo combinado que se utilizó para el análisis.

El reactivo combinado se debe preparar utilizando 50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N, 5 mL de tartrato de antimonio y potasio, 15 mL de molibdato de amonio y 30 mL de ácido ascórbico.

Luego se tomaron 50 mL de cada estándar y se agregaron a un erlenmeyer de 250 mL, se añadieron 8 mL de reactivo combinado y se dejó reaccionar por 10 minutos, posteriormente las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro visible *Thermo Scientific™ GENESYS™* 30 a una longitud de onda de 880 nm y antes de 30 minutos.

#### *4.1.3.2. Procedimiento de análisis de muestras.*

- Se retiraron las muestras y soluciones de la refrigeración y se dejaron atemperar.
- Se prepararon 2 blancos reactivos, para esto se tomaron 50 mL de agua destilada y se agregaron en un erlenmeyer de 250mL, cuales fueron analizados de la misma manera del procedimiento de la muestra.
- Se tomaron 50 mL de la muestra de agua filtrada y se agregaron en un erlenmeyer de 250 mL, este se rotulo como blanco de muestra el cual fue analizado utilizando un reactivo combinado modificado (se prepara solo utilizando 50 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N y 15 mL de molibdato de amonio).
- Se tomaron 50 mL de muestra y se agregaron a un erlenmeyer de 250 mL, se añadieron 8mL de reactivo combinado y se dejó reaccionar por 10 minutos, posteriormente la muestra fue leída en el espectrofotómetro visible *Thermo*

*Scientific™ GENESYS™ 30* a una longitud de onda de 880 nm y antes de 30 min transcurridos a partir de la adición del reactivo combinado.

## **4.2. Parte Experimental- Fósforo Total**

### **4.2.1. Materiales, equipos y reactivos.**

Los equipos utilizados de acuerdo al protocolo son:

- Espectrofotómetro visible *Thermo Scientific™ GENESYS™ 30*
- Balanza analítica *Citizen CX220*.
- Cabina de extracción *Airflux 5101C100X*.
- Agitador magnético con plancha de calentamiento *Velp Scientifica F20510051*

Los materiales utilizados son:

- Transferpipetas 100 – 1000 µL *BRAND*.
- Transferpipetas 500 – 5000 µL *BRAND*.
- Transferpipetas 1000 – 10000 µL *BRAND*.
- Pipetas de 50 mL, clase A
- Matraces aforados de 50, 100, 250, 500, 1000 mL, clase A
- Erlenmeyers de 250 mL, clase A

Reactivos utilizados:

- Agua destilada
- Tartrato de antimonio y potasio,  $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$
- Molibdato de amonio,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

- Ácido ascórbico,  $C_6H_8O_6$
- Ácido sulfúrico,  $H_2SO_4$  5N
- Ácido sulfúrico,  $H_2SO_4$  concentrado
- Ácido nítrico,  $HNO_3$  concentrado
- Hidróxido de sodio 1N, NaOH
- Solución Estándar de Fosfato 1000 mg/L trazable a NIST

#### **4.2.2. Muestreo y preservación.**

Las muestras utilizadas se recolectaron en recipientes de vidrio ámbar y se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico concentrado/L, para obtener un  $pH < 2$ , y fueron refrigeradas. Las muestras recolectadas luego de ser preservadas se tienen un tiempo de espera máximo de 28 días para realizar los análisis. La toma de la muestra de agua natural Río Sinú, sector Puerto platanito y la muestra de agua Residual fue tomada en la laguna de oxidación facultativa de Montería.

#### **4.2.3. Protocolo de análisis**

Para realizar la determinación de Fósforo total por el método del ácido ascórbico se tuvieron en cuenta los criterios de análisis descritos por el *standars methods* edición 2017.

##### ***4.2.3.1. Procedimiento de preparación de estándares.***

- A partir del Estándar de fósforo se preparó un patrón de 5 mg  $P-PO_4^{3-}/L$ , a partir del cual se prepararon por dilución los estándares de las siguientes concentraciones 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.1, 1.2, 1.3 mg  $P-PO_4^{3-}/L$ .
- Se realizaron los blancos reactivos de la misma manera del procedimiento de las muestras en este caso se usando agua destilada.

#### *4.2.3.1.1. Preparación de la curva de calibrado*

Se prepararon estándares en un intervalo de concentración entre 0.1-1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L y reactivos preparados, y posteriormente se preparó el reactivo combinado que se utilizó para el análisis.

Luego se tomaron 50 mL de cada estándar y se agregaron a un erlenmeyer de 250 mL, estos estándares fueron sometidos a una digestión ácida, para esto se añadió 1mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 mL de ácido nítrico concentrado, hasta reducir el volumen hasta aproximadamente 1mL o hasta que salgan humos de color blanco.

Posteriormente se dejó enfriar y luego se realizó un lavado de las paredes de cada uno de los erlenmeyer con agua destilada hasta un volumen aproximado de 20mL, luego de esto se adiciono 1 gota de fenolftaleína y se neutralizó con NaOH 1N hasta tener una coloración rosa.

Cada una de estas soluciones fue transferida a un matraz aforado de 50mL y aforados con agua destilada.

Seguidamente las muestras contenidas en los matraces aforados fueron transferidas nuevamente a un erlenmeyer y se le adiciono a cada una 8mL de reactivo combinado y se dejó reaccionar por 10 minutos, posteriormente las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro visible *Thermo Scientific™ GENESYS™ 30* a una longitud de onda de 880 nm y antes de 30 minutos.

#### *4.2.3.2. Procedimiento de análisis de muestras.*

- Se retiraron las muestras y soluciones de la refrigeración y se dejaron atemperar.

- Se prepararon 2 blancos reactivos, para esto se tomaron 50 mL de agua destilada y se agregaron en un erlenmeyer de 250 mL, cuales fueron analizados de la misma manera del procedimiento de las muestras.
- Se tomaron 50 mL de la muestra de agua filtrada y se agregaron en un erlenmeyer de 250mL, este se rotulo como blanco de muestra, el cual fue analizado siguiendo el mismo procedimiento de análisis de las muestras.
- Se tomaron 50 mL de muestra y se agregaron a un erlenmeyer de 250 mL estas muestras fueron sometidos a una digestión acida, para esto se añadió 1 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 mL de ácido nítrico concentrado, hasta reducir el volumen hasta aproximadamente 1 mL o hasta que salgan humos de color blanco.
- Se dejó enfriar y luego se realizó un lavado de las paredes de cada uno de los erlenmeyer con agua destilada hasta un volumen aproximado de 20mL
- Se adiciono 1 gota de fenolftaleína y se neutralizó con NaOH 1N hasta tener una coloración rosa.
- Cada una de estas soluciones fue trasferida a un matraz aforado de 50mL y aforados con agua destilada.
- Seguidamente las muestras contenidas en los matraces aforados fueron transferidas nuevamente a un erlenmeyer y se añadieron 8mL de reactivo combinado y se dejó reaccionar por 10 minutos, posteriormente la muestra fue leída en el espectrofotómetro visible *Thermo Scientific™ GENESYS™ 30* a una longitud de onda de 880 nm y antes de 30 min transcurridos a partir de la adición del reactivo combinado.

### 4.3. Plan De Validación

**Tabla 4.** Plan de validación

PARAMETROS DE VALIDACION	
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN CALIDAD AMBIENTAL SENA REGIONAL-CÓRDOBA	
MÉTODO DEL ACIDO ASCORBICO	
	ORTOFOSFATOS
MATRICES	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestra de agua potable: Corregimiento de Aguas Negras, Montería.</li> <li>• Muestra de agua natural: Caño el Purgatorio, punto barrio La Granja</li> <li>• Muestra de agua Residual: Laguna de oxidación facultativa de Montería.</li> </ul>
LÍMITE INSTRUMENTAL DEL METODO	<p>Se evaluaron 10 blancos reactivos, A partir de los datos de absorbancias obtenidos se calculó la desviación estándar y se determinó el L.D.I con la ecuación 1</p>
LÍMITE DE DETECCION	<p>Para determinar este parámetro se calculó límite de detección estimado a partir de los blancos reactivos del L.D.M, luego se analizaron 7 estándares cercanos al límite de detección estimado. Se adoptó como criterio el estándar evaluado con mayor exactitud, luego se calculó con la ecuación 2</p>
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	<p>Para determinar este parámetro se tomó la concentración promedio y desviación estándar de los 7 estándares correspondiente al límite de detección el cual se calcula a partir de la ecuación 3</p>
	Se realizó 1 curvas de calibración
	FOSFORO TOTAL
MATRICES	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestra de agua natural: Rio Sinú, sector Puerto platanito.</li> <li>• Muestra de agua Residual: Laguna de oxidación facultativa de Montería.</li> </ul>
LÍMITE INSTRUMENTAL DEL METODO	<p>Se evaluaron 10 blancos reactivos, los cuales fueron sometidos a una digestión acida. A partir de los datos de absorbancias obtenidos se calculó la desviación estándar y se determinó el L.D.I con la ecuación 1</p>
LÍMITE DE DETECCION	<p>Para determinar este parámetro se calculó límite de detección estimado a partir de los blancos reactivos del L.D.M, luego se analizaron 7 estándares cercanos al límite de detección estimado. Se adoptó como criterio el estándar evaluado con mayor exactitud, luego se calculó con la ecuación 2</p>
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	<p>Para determinar este parámetro se tomó la concentración promedio y desviación estándar de los siete 7 estándares correspondiente al límite de detección, el cual se calcula a partir de la ecuación 3</p>
	Se realizó 1 curvas de calibración

LINEALIDAD	<p>con las absorbancias promedio de 7 estándares (0.05, 0.08, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L), determinando el valor de coeficiente de correlación cercano al criterio de aceptabilidad. Criterio de aceptabilidad: <math>r^2 &gt; 0.99</math>, a estas se le realiza gráficos residuales, test de linealidad y test de proporcionalidad</p>	<p>con las absorbancias promedio de 7 estándares (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.1, 1.2, 1.3 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L), determinando el valor de coeficiente de correlación cercano al criterio de aceptabilidad. Criterio de aceptabilidad: <math>r^2 &gt; 0.99</math>, a estas se le realiza gráficos residuales, test de linealidad y test de proporcionalidad</p>
INTERVALO DE TRABAJO	<p>Se determina teniendo en cuenta las curvas de calibrado, observando el intervalo con mayor linealidad, el cual corresponde al intervalo 0.05-1mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L.</p>	<p>Se determina teniendo en cuenta las curvas de calibrado, observando el intervalo con mayor linealidad, el cual corresponde al intervalo 0.1-1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L.</p>
EXACTITUD	<p>Para la evaluación de este parámetro se analizaron por réplicas de 7, estándares a rango bajo (0.1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L), medio (0.4 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L) y alto (0.8 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L) de concentraciones de mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L. Los resultados obtenidos se evaluaron mediante la ecuación 14.</p>	<p>Para la evaluación de este parámetro se analizaron por réplicas de siete 7, estándares a rango bajo (0.25 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L), medio (0.55 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L) y alto (0.75 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L) de concentraciones de mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L. Los resultados obtenidos se evaluaron mediante la ecuación 14.</p>
PRECISIÓN	<p>La precisión experimental fue evaluada, en base a los ensayos realizados para la exactitud, los cuales permiten calcular los parámetros característicos de Repetibilidad y reproducibilidad.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Repetibilidad: Se determinó por análisis de muestras, estándares y adicionados por réplicas de 7 en un mismo día y con las mismas condiciones.</li> <li>• Reproducibilidad: Se determinó por análisis de estándares por réplicas de 7 durante 3 días continuos y analista diferente el día tres.</li> </ul> <p>Se calculará la precisión como coeficiente de variación mediante la</p>	<p>La precisión experimental fue evaluada, en base a los ensayos realizados para la exactitud, los cuales permiten calcular los parámetros característicos de Repetibilidad y reproducibilidad.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Repetibilidad: Se determinó por análisis de muestras, estándares y adicionados por réplicas de 7 en un mismo día y con las mismas condiciones.</li> <li>• Reproducibilidad: Se determinó por análisis de estándares por réplicas de 7 durante 3 días continuos y analista diferente el día tres.</li> </ul> <p>Se calculará la precisión como coeficiente de variación mediante la</p>



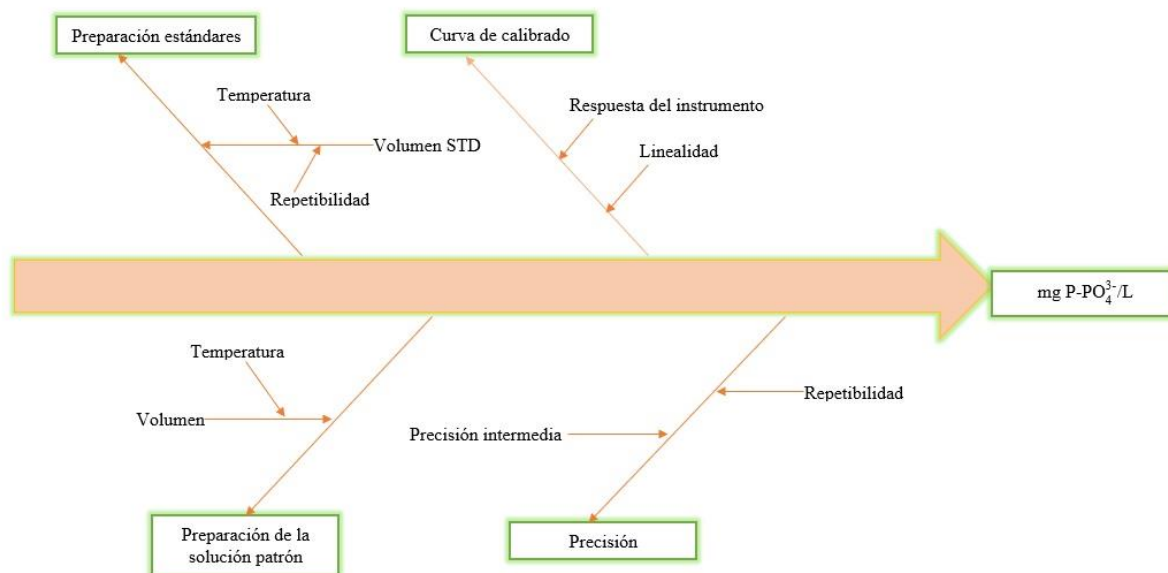
	ecuación 16.	ecuación 16.
% RECUPERACION	El porcentaje de recuperación se determinó por réplicas de siete 7, adicionando a las matrices de estudio (agua potable, residual y natural) una cantidad conocida de la solución madre de 10 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L, teniendo en cuenta que no salga del intervalo de trabajo; los resultados se calcularon mediante la ecuación 15.	El porcentaje de recuperación se determinó por réplicas de siete 7, adicionando a las matrices de estudio (agua residual y natural) una cantidad conocida de la solución madre de 10 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L, teniendo en cuenta que no salga del intervalo de trabajo; los resultados se calcularon mediante la ecuación 15.
INCERTIDUMBRE	Para el cálculo de esta se establecerán las fuentes de incertidumbre durante todo el proceso. Para esto se tendrán en cuenta los diagramas de causas – efectos o de Ishikawa. Luego de identificar cada fuente se procede a hallar la incertidumbre estándar, combinada y expandida.	Para el cálculo de esta se establecerán las fuentes de incertidumbre durante todo el proceso. Para esto se tendrán en cuenta los diagramas de causas – efectos o de Ishikawa. Luego de identificar cada fuente se procede a hallar la incertidumbre estándar, combinada y expandida.

#### 4.3.1. Análisis Estadístico.

Se calculó coeficiente de variación (%CV) y porcentaje de error (%E) para evaluar precisión y exactitud del método. Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) para indicar diferencia significativa de los resultados entre días y analistas de los ensayos realizados, Durbin-Watson para determinar si existe una autocorrelación serial en los residuos, test de significancia estadística para determinar si la pendiente es significativamente distinta de cero, test de Cochran para verificar que el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados, test de Shapiro-Wilks para indicar que los residuales provienen de datos que se ajustan a una distribución normal, test de Grubbs para la determinación de datos atípicos, Se evaluó el coeficiente de variación de los factores de respuesta. Los programas estadísticos empleados fueron Microsoft Office Excel y *Statgraphics Centurion XVII*.II.

#### 4.4. Incertidumbre

Se establecieron todas las fuentes de incertidumbre asociadas al método, y con ellas se procedió a realizar el diagrama de causa- efecto. Para el cálculo de esta se establecieron las fuentes de incertidumbre durante todo el proceso. Para esto se tendrán en cuenta el diagrama de causa y efecto.



**Figura 3.** Diagrama de Ishikawa para la identificación de fuentes de incertidumbre

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados del proceso de validación de las metodologías analíticas para la determinación de Ortofosfatos y Fósforo Total que se muestran a continuación fueron obtenidos al analizar los diferentes parámetros, como lo son linealidad, límites de detección y cuantificación, exactitud, precisión e incertidumbre.

Las muestras de agua analizadas, para la determinación de exactitud como porcentaje de recuperación y precisión, fueron recolectadas del corregimiento de Aguas Negras (Potable - Ortofosfatos), del Caño el Purgatorio (Natural- Ortofosfatos), del Rio Sinú (Natural-Fósforo Total) y de la laguna de oxidación facultativa de Montería (Residual - Ortofosfatos y Fósforo Total).

### **5.1. Prueba de Grubbs**

Se realizó un contraste de Grubbs como análisis estadístico a los datos obtenidos de las absorbancias de los puntos de la curva de calibrado, los estándares y las muestras, los cuales fueron analizados durante 3 días consecutivos y tomando 7 réplicas de cada uno, para determinar si estos corresponden a datos atípicos o no, es decir, verificar si existen datos que están por encima o por debajo del resto de los datos obtenidos.

Al aplicar el contraste de Grubbs a los datos obtenidos del análisis de los estándares pertenecientes a las curvas de calibrado y límites de detección de la determinación de Ortofosfatos (Anexo B, Tabla B5) y Fósforo total (Anexo B, Tabla B11) se comprobó que no existían datos atípicos en ninguno de los dos procedimientos, de esta manera se tiene que

$T_{calculado} < T_{tablas}$ , lo cual confirma la hipótesis nula,  $H_0$ : No hay datos atípicos en la muestra.

**Tabla 5.** Test de Grubbs para la curva de calibrado

Contraste de Grubbs	Ortofosfatos		
	T (Valor máximo)	T (Valor mínimo)	T (Tabla n=7, $\alpha=0.05$ )
	1.56	0.94	1.94
	Fósforo Total		
	T (Valor máximo)	T (Valor mínimo)	T (Tabla n=6, $\alpha=0.05$ )
	1.38	1.21	1.82

Posteriormente se aplicó este mismo test a los datos obtenidos de los estándares (Rango bajo, medio y alto) y de las muestras (Agua potable, natural y residual) para los procedimientos de determinación de Ortofosfatos y fósforo total para un valor  $\alpha = 0.05$ , esta prueba de Grubbs fue aplicada a los datos obtenidos de cada uno de los estándares y muestras por cada día de análisis, obteniéndose datos atípicos en las réplicas de los estándares bajo y alto (Anexo C, Tablas C1,C2,C3) de Ortofosfatos y el alto para Fósforo total (Anexo C, Tablas C8,C9,C10), utilizados para el cálculo de precisión y exactitud, al aplicar el contraste de Grubbs a los datos obtenidos de las muestras como porcentaje de recuperación (Anexo C, Tablas C6,C13) y precisión de la muestra (Anexo C, Tablas C4,C11), se obtuvieron datos atípicos en la recuperación de Ortofosfatos para agua residual, mientras que para los datos de las muestras de Fósforo total no existieron datos atípicos. En los casos en los que fue encontrado un dato atípico, este fue eliminado y se volvió a aplicar el contraste de Grubbs obteniéndose que estos no presentaron más datos atípicos y cumplían con la condición  $T_{exp} < T_{tablas}$  (Anexo C, Tabla C2).

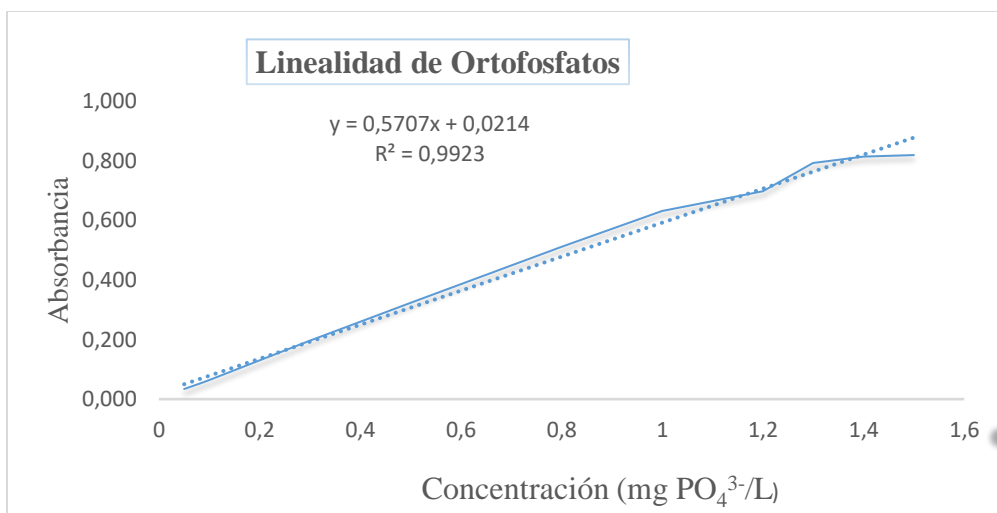
## 5.2. Linealidad e intervalo lineal

Para la determinación del intervalo lineal se evaluaron una serie de estándares de concentraciones desde 0.05 a 1.5 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para Ortofosfatos y desde 0.1 a 1.3 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para Fósforo Total, las lecturas de estos estándares se realizaron por triplicado y luego se tomaron las absorbancias promedio de cada uno de ellos para la elaboración de la gráfica de linealidad, que permitió determinar el intervalo de trabajo o curva de calibrado que se utilizó en los posteriores análisis para ambos métodos.

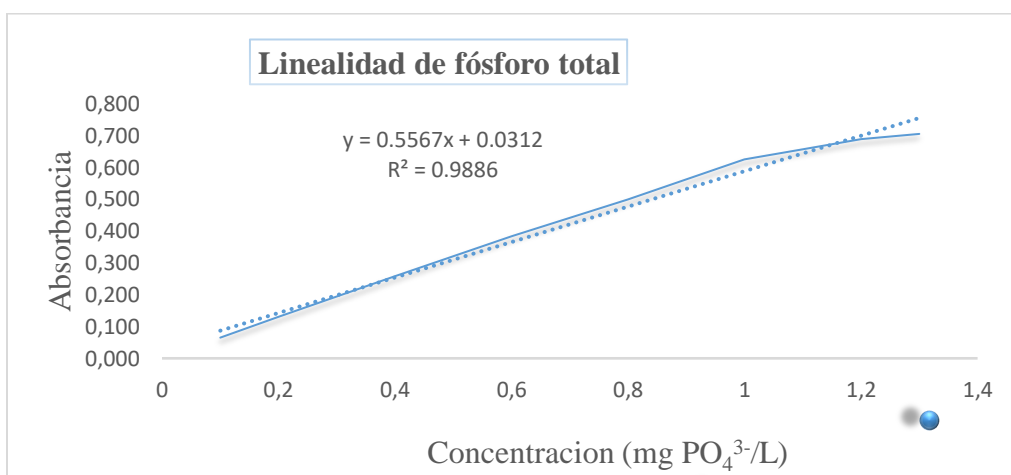
**Tabla 6.** Datos para la determinación del intervalo lineal.

Ortofosfatos		Fósforo Total	
Concentración (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia Promedio	Concentración (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia Promedio
0.05	0.034	0.1	0.065
0.08	0.051	0.2	0.131
0.1	0.064	0.4	0.258
0.3	0.196	0.6	0.383
0.5	0.324	0.8	0.499
0.8	0.512	1.0	0.625
1	0.631	1.1	0.657
1.2	0.697	1.2	0.689
1.3	0.792	1.3	0.705
1.4	0.813		
1.5	0.819		

Al graficar los datos de concentración Vs absorbancia mostrados en la Tabla 6 se obtuvo una gráfica de linealidad, la cual permitió establecer el rango lineal de las mismas.

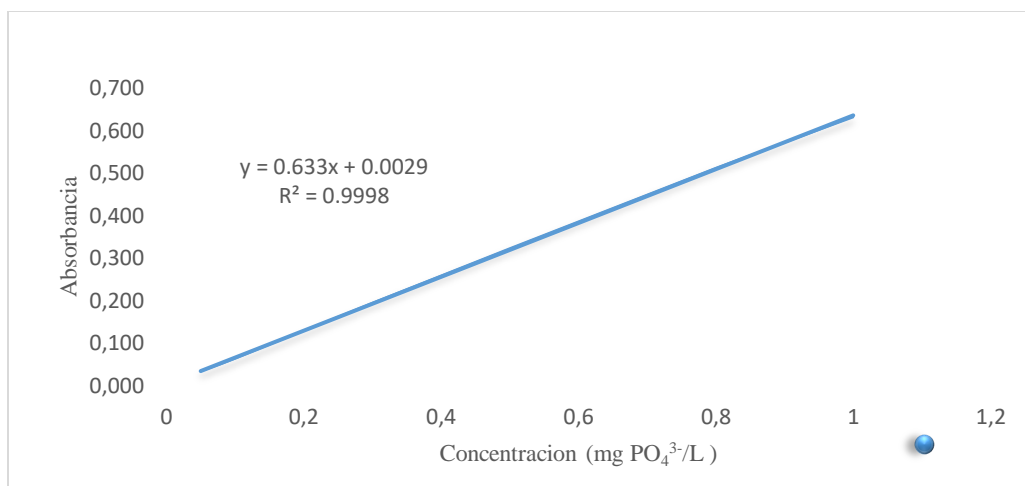


**Figura 4.** Determinación del intervalo lineal para Ortofosfatos

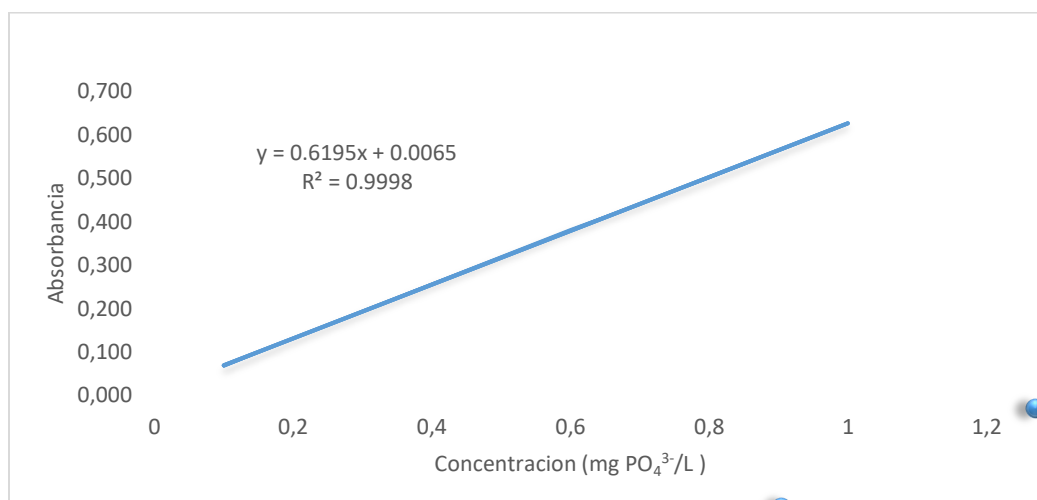


**Figura 5.** Determinación del intervalo lineal para Fósforo Total

A partir de las gráficas obtenidas en las Figuras 4 y 5 se pudo determinar que estas mantienen la linealidad en el intervalo de concentración de 0.05- 1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para la gráfica de linealidad de Ortofosfatos y 0.1- 1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para la gráfica de linealidad de Fósforo Total y teniendo en cuenta estos intervalos lineales se construyeron las curvas de calibrado para Ortofosfatos y Fósforo Total como se muestra en las figuras 6 y 7.



**Figura 6.** Curva de calibrado para Ortofosfatos



**Figura 7.** Curva de calibrado para Fósforo Total

### 5.2.1. Análisis de linealidad

La ecuación de la recta para los métodos de Ortofosfatos y Fósforo Total es de la forma

$$Y = mX + b \quad (34)$$

Y aplicada al modelo de la curva de calibrado para Ortofosfatos tenemos que

$$\text{Absorbancia} = 0.00390206 + 0.631691 \cdot [\text{mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}] \quad (35)$$

Para evaluar la linealidad de la curva de calibrado construida se realizó una regresión simple, con la cual se determinó que el intervalo de trabajo presenta un coeficiente de correlación  $r=0.999887$  y un coeficiente de determinación  $r^2$  del 99.97% el cual indica que existe una correlación lineal positiva entre la concentración y la absorbancia de los estándares analizados.

En el caso de la curva de calibrado para Fósforo Total tenemos que

$$\text{Absorbancia} = 0.00688219 + 0.61926 * [\text{mg P-PO}_4^{3-}/\text{L}] \quad (36)$$

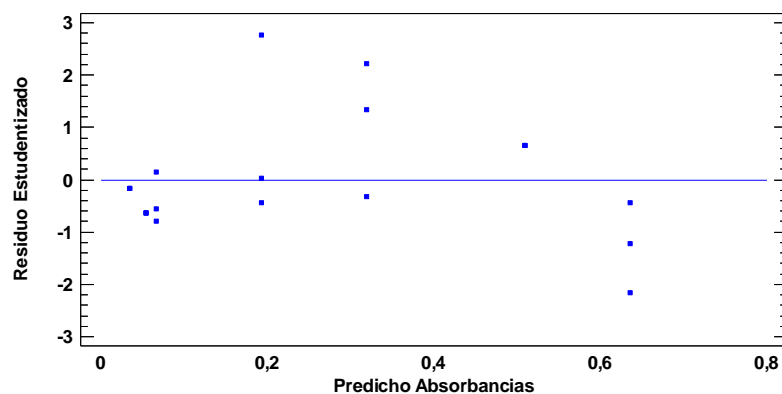
Para evaluar la linealidad de la curva de calibrado construida se realizó una regresión simple, con la cual se determinó que el intervalo de trabajo presenta un coeficiente de correlación  $r=0.999873$  y un coeficiente de determinación  $r^2$  del 99.97% el cual indica que existe una correlación lineal positiva entre la concentración y la absorbancia de los estándares analizados.

De acuerdo a los datos obtenidos del análisis de varianza podemos decir que el valor-P obtenido en el análisis de datos de Ortofosfatos y Fosforo Total es menor que 0.05, lo cual indica que existe una relación estadísticamente significativa entre la absorbancia y la concentración con un nivel de confianza del 95.0%.

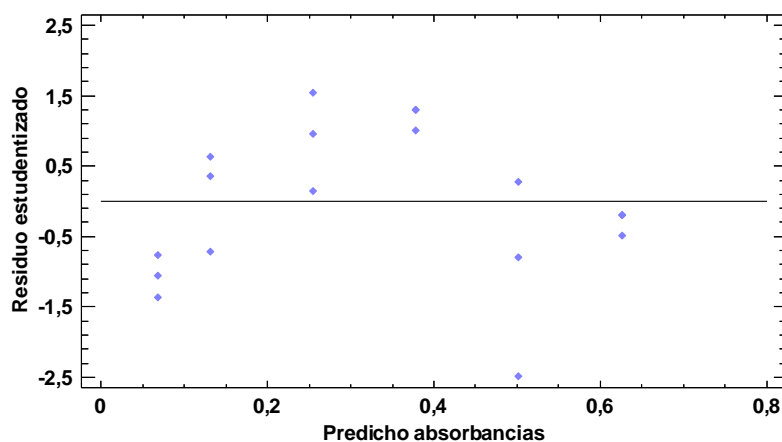
#### ***5.2.1.1. Varianza residual constante (homocedasticidad)***

Adicionalmente se realizó una representación de los residuales Vs los valores predichos para obtener de esta manera mayor información sobre el supuesto de que los intervalos de trabajo son lineales, y dado que los gráficos de la Figura 8 y 9 muestran una distribución aleatoria en los puntos, se concluye que estos no siguen un patrón, por lo que confirma el supuesto de que la curva de calibrado de Ortofosfatos y la de Fósforo Total tienen homogeneidad de varianzas.





**Figura 8.** Gráfica de residuos vs predicho para la curva de Ortofosfatos.



**Figura 9.** Curva de calibrado para Fósforo Total

#### ***5.2.1.2. Test de Durbin-Watson***

El test estadístico de Durbin-Watson permitió evaluar si existía una autocorrelación en la regresión lineal realizada a la curva de calibrado de Ortofosfatos y Fósforo Total, analizando si existía una dependencia entre los valores de los datos que fueron analizados, ya fuera en cuanto al orden u obtención de los mismos, dado que el valor-P obtenido en los análisis es mayor que 0.05, se puede afirmar que no existe una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 7.** Test de Durbin-Watson

	Ortofosfatos		
	T	Valor-P	Autocorrelación de residuos en retraso 1
Durbin-Watson	1.50177	0.0876	0.0971845
	Fósforo Total		
	T	Valor-P	Autocorrelación de residuos en retraso 1
	1.59029	0.0911	0.0712681

#### ***5.2.1.3. Coeficiente de variación de los factores de respuesta.***

Cuando se evalúa la linealidad de una curva de calibrado se debe tener en cuenta que los factores de respuesta deben ser semejantes entre sí con la pendiente de la curva, de esta manera al calcular el coeficiente de variación de los factores de respuesta para el método se tuvo un valor de 2.783% para Ortofosfatos y un valor de 2.171%, para Fósforo Total, el cual corresponde a un resultado aceptable ya que es inferior al 5% e indica que existe linealidad en el modelo evaluado (VER ANEXO B, Tablas B3 y B9).

#### ***5.2.1.4. Test de significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente.***

El test estadístico de Significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente, se aplicó utilizando la Ecuación 10, utilizando la prueba de t-Student para comparar el  $T_{exp}$  con el  $T_{tablas}$ , con un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$  con n-2 grados de libertad, la tabla 8 se muestra que  $T_{exp} > T_{tablas}$  para ambos métodos, lo que indica que existe una pendiente significativamente distinta de cero. (VER ANEXO B, Tablas B4 y B10)

**Tabla 8.** Test de significancia estadística.

Test de Significancia	Ortofosfatos
-----------------------	--------------

estadística	T <sub>(Exp)</sub>	T <sub>(Tabla n=21, α=0.05)</sub>
	232.524	2.093
Fósforo Total		
	T <sub>(Exp)</sub>	T <sub>(Tabla n=18, α=0.05)</sub>
	214.852	2.12

#### 5.2.1.5. Homogeneidad de varianzas

Para evaluar la homogeneidad de varianzas se aplicó un test de Cochran, el cual permitió determinar que la concentración no tiene ninguna influencia en la variabilidad de los resultados, ya que esta prueba compara el cambio en la distribución de proporciones de las mediciones y determina que la diferencia no se deba al azar, obteniéndose de esta manera que el  $G_{exp} < G_{tabla}$  como se muestra en la tabla 19 (ANEXO B, Tablas B2 y B8).

**Tabla 9.** Test de Cochran.

Test de Cochran	Ortofosfatos	
	G <sub>(Exp)</sub>	G <sub>(Tabla)</sub>
	0.463	0.561
	Fosforo Total	
	G <sub>(Exp)</sub>	G <sub>(Tabla)</sub>
	0.091	0.616

#### 5.2.1.6. Normalidad de los residuales.

Para evaluar la normalidad de los residuales se aplicó el test de Shapiro-Wilks, en el cual se plantea la hipótesis nula  $H_0$  = los residuales provienen de una distribución normal, y usando un nivel de significancia del 95%, o la hipótesis alternativa  $H_1$  = los residuales no provienen de una distribución normal. Dado que el P-valor obtenido en el análisis estadístico es  $> 0.05$  como se muestra en la tabla 16, se confirma la hipótesis nula.

**Tabla 10.** Test de Shapiro-Wilks

Test de Shapiro-Wilks	Ortofosfatos	
	Estadístico	Valor-P
	0.923306	0.0976983
	Fosforo Total	
	Estadístico	Valor-P
	0.966433	0.713919

**5.2.2. Límites de detección y cuantificación.**

Para la determinación de este parámetro se calculó el límite de detección instrumental a partir de las absorbancias de 7 blancos reactivos, obteniéndose que el límite de detección instrumental es de  $0.002 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  para Ortofosfatos y de  $0.005 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  para Fósforo Total, siendo esta la concentración mínima que puede detectar el equipo.

Se estima el límite de detección del método y límite de cuantificación a partir de la Repetibilidad de la señal de los 7 blancos reactivos analizados y utilizando la desviación estándar de los mismos para su cálculo. De esta manera se obtuvo que el límite de detección del método es de  $0.002 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  para Ortofosfatos y de  $0.013 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  para Fósforo Total, estas corresponden a las concentraciones del analito que produce una señal que tiene una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco, mientras que el límite de cuantificación o concentración mínima cuantificable que se puede determinar con un rendimiento aceptable es de  $0.02 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  (Anexo A, Tabla A1) para Ortofosfatos y de  $0.05 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  para Fosforo Total (Anexo A, Tabla A4), los cuales corresponden a un límite de cuantificación teórico, teniendo en cuenta estos valores calculados se prepararon una serie de 7 réplicas de

4 estándares de concentraciones para Ortofosfatos (Anexo A, Tabla A3) y de 5 estándares de concentraciones para Fosforo Total (Anexo A, Tabla A6) que fueran cercanas al L.C, se le determino la concentración a cada una de las réplicas de los estándares, su porcentaje de error y coeficiente de variación, obteniéndose los resultados mostrados en las tablas 17 y 18.

**Tabla 11.** Limite de cuantificación del método para Ortofosfatos.

Límite De Cuantificación Del Método				
	0.02mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.03mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.04mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.05mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L
Concentración Promedio	0.016	0.028	0.035	0.051
Desviación estándar	0.001	0.005	0.001	0.002
% CV	6.6	16.2	1.8	3.1
%E Promedio	18.64	14.66	12.20	2.91
T para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94
Valor mínimo	0.015	0.025	0.035	0.049
Valor máximo	0.018	0.036	0.036	0.052
T bajo	1.10	0.59	0.35	1.00
T alto	1.33	1.67	2.10	1.00

**Tabla 12.** Limite de cuantificación del método para Fosforo Total.

Límite De Cuantificación Del Método					
	0.05 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.06 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.07 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.09 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L
Concentración Promedio	0.033	0.071	0.067	0.087	0.100
Desviación estándar	0.007	0.020	0.006	0.018	0.003
% CV	22.3	28.5	9.6	20.8	2.8
%E Promedio	33.52	21.99	16.59	17.50	2.19
T para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94
Valor mínimo	0.023	0.048	0.064	1.94	0.096
Valor máximo	0.041	0.099	0.081	0.064	0.104
T bajo	1.34	1.15	0.54	0.112	1.34
T alto	1.06	1.41	2.23	1.28	1.59

De acuerdo a los resultados obtenidos de los estándares se puede observar que los estándares preparado a una concentración de 0.05 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para ortofosfatos y de 0.1 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para Fósforo Total presentan un coeficiente de variación menor al 5% y un porcentaje de

error inferior al 10%, adicional a esto se tiene que las 7 réplicas de los estándares analizados también cumplen con estas condiciones (ANEXO A, Tablas A2 y A5). Teniendo esto en cuenta se decidió tomar estas concentraciones como el límite de cuantificación del método para la determinación de Ortofosfatos y Fósforo Total respectivamente, además de esto las concentraciones fueron tomadas como el primer punto de la curva de calibrado en cada caso.

### 5.2.3. Precisión

Se evaluó la precisión (Repetibilidad y precisión intermedia) del método como repetibilidad y reproducibilidad (entre analistas y días) expresada como coeficiente de variación (%CV) en tres niveles de concentración (Rango bajo, medio y alto). Se observa que la repetibilidad y precisión intermedia es considerablemente buena, ya que, se presentaron coeficientes de variación inferiores al 10%, criterio establecido por el procedimiento control de calidad analítico LICAM-PTA-001, y 11% límite establecido por la AOAC, para un nivel de concentración próximo a 1 ppm, el cual representa el nivel de concentración en el que se trabajó.

Como se muestra en la siguiente tabla todos los datos obtenidos en cada día de ensayo tienen un %CV menor al 5% demostrando que ambos métodos son repetibles al variar las condiciones de trabajo.

**Tabla 13.** Repetibilidad de estándares analista 1

Ortofosfatos												
Precisión - Estándares Analista 1												
Ensayo		STD Rango Bajo			STD Rango Medio			STD Rango Alto				
		$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV		
Día 1	0.1 mg P - $\text{PO}_4^{3-}$ /L	0.097	0.001	1.279	0.4 mg P - $\text{PO}_4^{3-}$ /L	0.406	0.007	1.82	0.8 mg P - $\text{PO}_4^{3-}$ /L	0.822	0.003	0.32
Día 2		0.103	0.003	2.570		0.412	0.007	1.74		0.832	0.016	1.93
Día 3		0.096	0.001	0.904		0.402	0.004	0.97		0.823	0.006	0.77
Fosforo Total												

Precisión - Estándares Analista 1												
Ensayo		STD Rango Bajo			STD Rango Medio			STD Rango Alto				
		$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV		
Día 1	0.25 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.249	0.006	2.21	0.55 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.559	0.007	1.32	0.75 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.773	0.009	1.23
Día 2		0.248	0.002	0.97		0.556	0.005	0.96		0.773	0.007	0.90
Día 3		0.249	0.007	2.87		0.559	0.006	1.09		0.767	0.013	1.68

Adicionalmente fue evaluada la Repetibilidad de los estándares analizados por el analista 2 en el tercer día de trabajo, estos datos también muestran %CV menores al 5%.

**Tabla 14.** Repetibilidad de estándares analista 2

Ortofosfatos												
Precisión - Estándares Analista 2												
Ensayo	STD Rango Bajo				STD Rango Medio				STD Rango Alto			
	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	$\bar{x}$	S	%CV	0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	$\bar{x}$	S	%CV	0.8 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	$\bar{x}$	S	%CV
Día 3		0.096	0.003	3.136		0.411	0.007	1.595		0.828	0.006	0.705
Fosforo Total												
Precisión - Estándares Analista 2												
Ensayo	STD Rango Bajo				STD Rango Medio				STD Rango Alto			
	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	$\bar{x}$	S	%CV	0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	$\bar{x}$	S	%CV	0.75 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	$\bar{x}$	S	%CV
Día 3		0.241	0.005	2.18		0.551	0.003	0.46		0.759	0.007	0.97

De la misma manera fue evaluada la repetibilidad en las muestras de agua analizadas de las diferentes matrices (agua potable, natural y residual para Ortofosfatos, (ver Anexo C, Tablas C9 C10 y C11) y agua natural y residual para Fosforo Total, ver (Anexo C, Tablas C25 y C26), estos datos muestran %CV menores al 5%.

**Tabla 15.** Repetibilidad de muestras analista 1

Ortofosfatos									
PRECISIÓN - MUESTRA analista 1									
Ensayo	$M_{AP}$			$M_{AN}$			$M_{AR}$		
	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV
Día 1	0.072	0.001	0.900	0.279	0.003	1.020	0.336	0.001	0.324

Día 2	0.071	0.001	1.535	0.271	0.005	1.922	0.326	0.004	1.121
Día 3	0.072	0.002	2.452	0.274	0.004	1.625	0.316	0.005	1.564

Fosforo Total

PRECISIÓN - MUESTRA analista 1

Ensayo	$M_{AN}$			$M_{AR}$		
	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV
Día 1	0.209	0.009	4.21	0.345	0.005	1.59
Día 2	0.209	0.006	2.66	0.321	0.004	1.18
Día 3	0.209	0.006	2.99	0.314	0.004	1.25

$M_{AP}$ : Muestra de agua potable;  $M_{AN}$ : Muestra de agua natural;  $M_{AR}$ : Muestra de agua residual.

El parámetro de reproducibilidad fue calculado entre días, y entre analistas para los estándares, en los tres niveles de concentración trabajados en ambos métodos, mientras que para las muestras solo se calculó entre días. Nuevamente este parámetro es evaluado bajo la condición de que el %CV sea menor al 5%, para todos los casos analizados (Tablas de la 16 a la 18) se cumple esta condición, demostrando así que los métodos son reproducibles tanto para los estándares como para las muestras o matrices analizadas (Anexo D).

**Tabla 16.** Reproducibilidad entre Días analista 1

Ortofosfatos												
Precisión - Estándares Analista 1												
Ensayo		STD Rango Bajo			STD Rango Medio			STD Rango Alto				
		$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV		
Día 1	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.099	0.004	3.722	0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.407	0.008	1.864	0.8 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.825	0.011	1.308
Día 2												
Día 3												
Fosforo Total												
Precisión - Estándares Analista 1												
Ensayo		STD Rango Bajo			STD Rango Medio			STD Rango Alto				
		$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV		
Día 1	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.249	0.005	2.06	0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.558	0.006	1.11	0.75 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.771	0.010	1.32
Día 2												
Día 3												

**Tabla 17.** Reproducibilidad entre analistas



Ortofosfatos												
Precisión – Estándares												
Ensayo		STD Rango Bajo			STD Rango Medio			STD Rango Alto				
		$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV		
Día 3												
Analista 1	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.096	0.002	2.295	0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.406	0.007	1.779	0.8 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.825	0.006	0.779
Día 3												
Analista 2												
Fosforo Total												
Precisión – Estándares												
Ensayo		STD Rango Bajo			STD Rango Medio			STD Rango Alto				
		$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV	$\bar{x}$	S	%CV		
Día 3												
Analista 1	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.245	0.007	3.00	0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.555	0.006	1.12	0.75 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.763	0.011	1.43
Día 3												
Analista 2												

**Tabla 18.** Reproducibilidad de muestras entre días

Ortofosfatos												
PRECISIÓN - MUESTRAS analista 1												
Ensayo		$\bar{x}$	S	%CV		$\bar{x}$	S	%CV		$\bar{x}$	S	%CV
Día 1	$M_{AP}$				$M_{AN}$				$M_{AR}$			
Día 2		0.071	0.001	1.753		0.275	0.005	1.851		0.326	0.009	2.784
Día 3												
Fosforo Total												
PRECISIÓN - MUESTRAS analista 1												
Ensayo		$\bar{x}$	S	%CV		$\bar{x}$	S	%CV		$\bar{x}$	S	%CV
Día 1	$M_{AN}$				$M_{AR}$							
Día 2		0.209	0.007	3.19		0.327	0.014	4.32				
Día 3												

$M_{AP}$ : Muestra de agua potable;  $M_{AN}$ : Muestra de agua natural;  $M_{AR}$ : Muestra de agua residual.

#### 5.2.4. Exactitud

La exactitud del método fue evaluada como porcentaje de error para los diferentes niveles de concentración, 0.1, 0.4 y 0.8 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para ortofosfatos y 0.25, 0.55 y 0.75 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/L para Fósforo Total y como porcentaje de recuperación en matrices de agua potable,

natural y residual en Ortofosfatos y agua natural y residual para Fósforo Total. Para cada uno de los análisis se evaluaron 7 réplicas de cada estándar y matriz.

Para la determinación de la exactitud como porcentaje de error se manejó la condición de que este debía ser inferior al 10% como lo establece el procedimiento control de calidad analítico LICAM-PTA-001, sin embargo, se pudo comprobar que estos estuvieron por debajo del 5%, es decir que existe un porcentaje de error bajo en cada uno de los análisis (Anexo D). A continuación, en las Tablas 19 y 20 se muestra los porcentajes de error de los estándares y las muestras

**Tabla 19.** % Error para estándares

Ortofosfatos								
Exactitud - Estándares Analista 1								
Ensayo		STD Rango Bajo		STD Rango Medio		STD Rango Alto		
		%E	$\bar{x}$	%E	$\bar{x}$	%E	$\bar{x}$	
Día 1		2.820		1.419		2.699		
Día 2	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	3.048	3.385	3.112	1.645	3.941		3.160
Día 3	0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	4.287		0.404		2.840		
Fosforo Total								
Exactitud - Estándares Analista 1								
Ensayo		STD Rango Bajo		STD Rango Medio		STD Rango Alto		
		%E	$\bar{x}$	%E	$\bar{x}$	%E	$\bar{x}$	
Día 1		0.55		1.68		3.01		
Día 2	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.74	0.58	1.09	1.48	3.12		2.76
Día 3	0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	0.46		1.68		2.21		

**Tabla 20.** %Error para estándares analista 2

Ortofosfatos						
Exactitud - Estándares Analista 2						
Ensayo	STD Rango Bajo		STD Rango Medio		STD Rango Alto	
	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.8 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E
Día 3		0.096		0.411		0.828
Fosforo Total						
Exactitud - Estándares Analista 2						
Ensayo	STD Rango Bajo		STD Rango Medio		STD Rango Alto	

	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.75 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E
Día 3		3.69		0.17		1.16

Adicionalmente se evaluó el porcentaje de recuperación para las matrices, este se calculó a partir de la concentración promedio de las muestras analizadas sin fortificar y las muestras de agua fortificadas. De esta manera fue posible calcular el de recuperación para cada una de las matrices analizadas (Anexo D), Los resultados obtenidos para porcentaje de recuperación fueron evaluados según el criterio establecido por el procedimiento de control de calidad analítico LICAM-PTA-001, en el que se establece que para el rango de concentraciones utilizado en estos procedimientos debe estar entre el 70-130%, los porcentajes de recuperación en función de fortificación de estándares obtenidos se encuentran dentro de este intervalo de aceptación, además también cumplen con el criterio de aceptación establecido por la AOAC en el que en este rango de concentración los porcentajes de recuperación deben estar entre el 80- 110 % . Lo cual indica que los métodos no presentan perdidas de analito (<80%) o interferencia de matriz (>110%).

**Tabla 21.** % R para matrices

Ortofosfatos			
Exactitud – Matrices			
Ensayo	M <sub>AP</sub> %R	M <sub>AN</sub> %R	M <sub>AR</sub> %R
Día 1	104.3	95.6	100.9
Día 2	104.0	96.1	99.9
Día 3	96.1	96.9	95.7
Fosforo Total			
Exactitud – Matrices			
Ensayo	M <sub>AN</sub> %R	M <sub>AR</sub> %R	
Día 1	106.3	100.4	
Día 2	105.6	101.7	

Día 3 104.9 101.0  
 $M_{AP}$ : Muestra de agua potable;  $M_{AN}$ : Muestra de agua natural;  $M_{AP}$ : Muestra de agua residual.

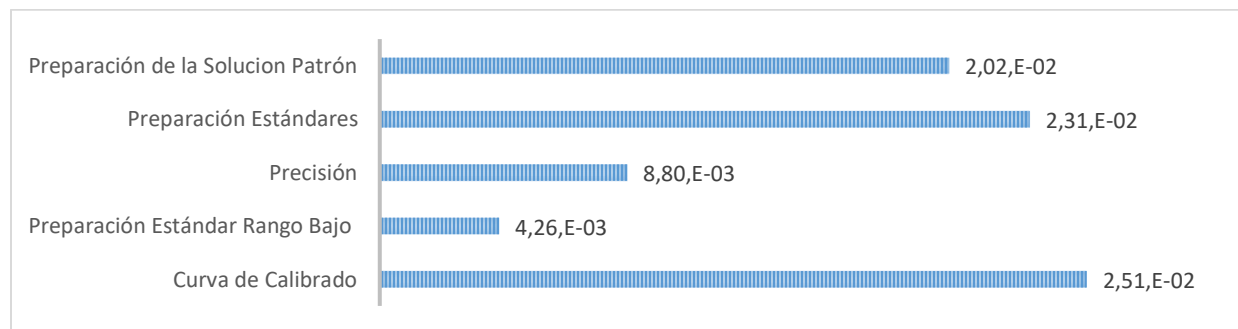
### 5.3. Incertidumbre

Para la determinación de la incertidumbre de los métodos aplicados en este trabajo se tuvieron en cuenta variables como la incertidumbre asociadas a preparación de la solución patrón, la incertidumbre asociadas a los estándares usados para preparación de la curva, la incertidumbre asociada a la precisión del método y la incertidumbre asociada a la curva de calibrado, obteniéndose así que la incertidumbre expandida se encuentra entre el 5.1- 7% para Ortofosfatos y entre el 5.45- 6% para Fosforo Total (Anexo E).

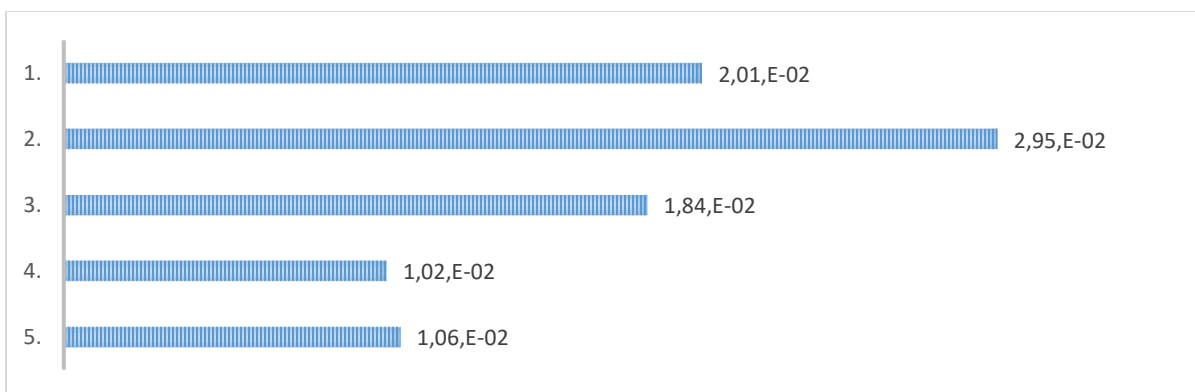
**Tabla 22.** Incertidumbre Expandida

Incertidumbre (mg P- $\text{PO}_4^{3-}$ )	Ortofosfatos		
	Rango Bajo	Rango Medio	Rango Alto
	$0.100 \pm 0.007$	$0.400 \pm 0.024$	$0.800 \pm 0.041$
	Fosforo Total		
	Rango Bajo	Rango Medio	Rango Alto
	$0.25 \pm 0.015$	$0.55 \pm 0.030$	$0.75 \pm 0.042$

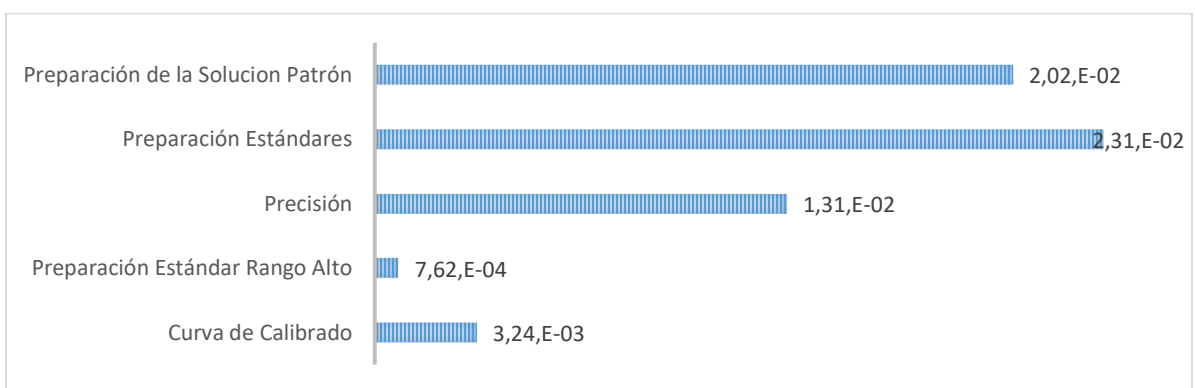
Las siguientes figuras muestran la contribución de cada una de las fuentes de incertidumbre para Ortofosfatos:



**Figura 10.** Fuentes de Incertidumbre Rango Bajo

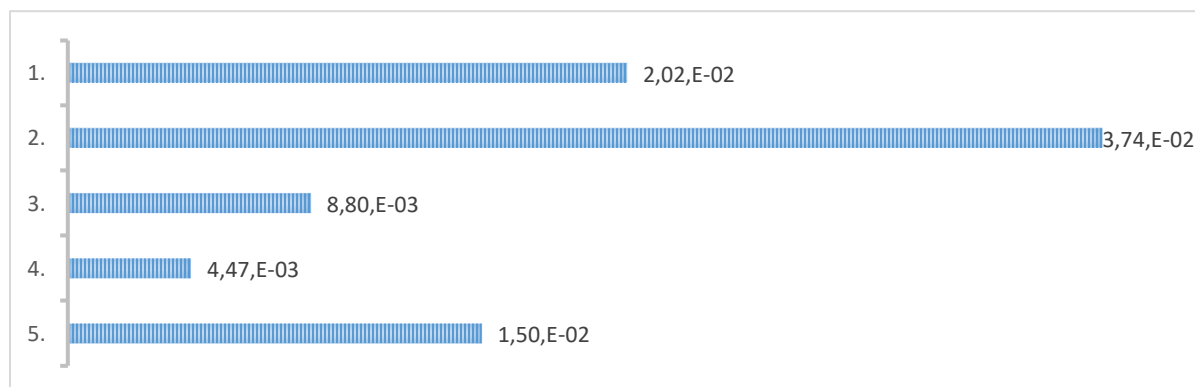


**Figura 11.** Fuentes de Incertidumbre Rango Medio

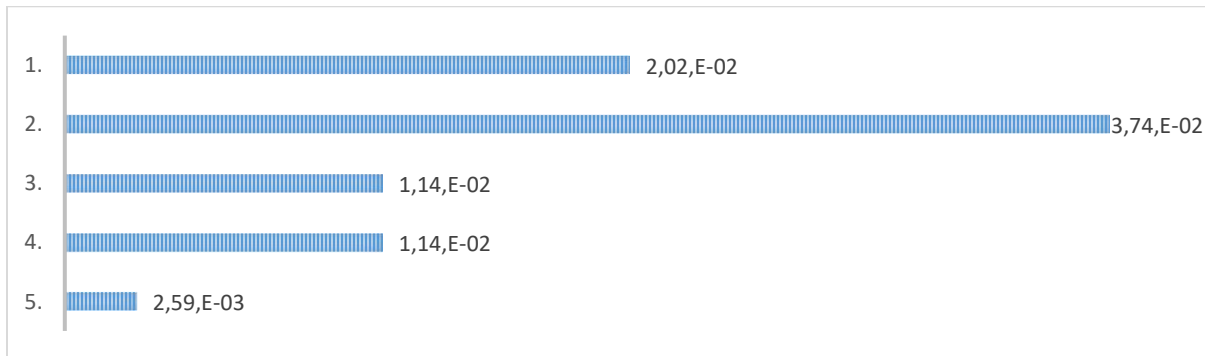


**Figura 12.** Fuentes de Incertidumbre Rango Alto

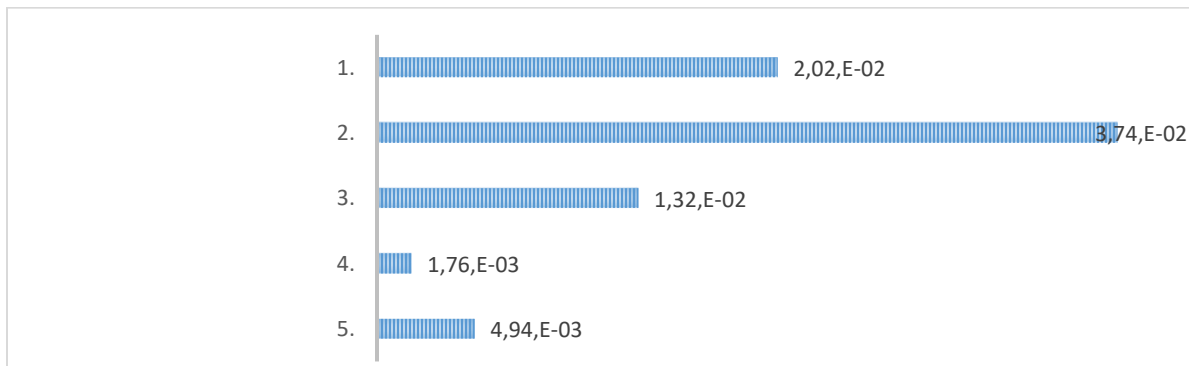
Las siguientes figuras muestran la contribución de cada una de las fuentes de incertidumbre presentes en el método de determinación de Fosforo Total:



**Figura 13.** Fuentes de Incertidumbre Rango Bajo



**Figura 14.** Fuentes de Incertidumbre Rango Medio



**Figura 15.** Fuentes de incertidumbre Rango Alto

## 6. CONCLUSIONES

- Se validaron las metodologías analíticas para la determinación de Ortofosfatos y Fosforo total en muestras de agua por el método del ácido ascórbico, en el LICAM del SENA- CCIT, cumplieron con todos los parámetros establecidos en el proceso de validación, adicionalmente, se verifico que estos cumplieran con los criterios establecidos por el procedimiento control de calidad analítico LICAM-PTA-001 y la AOAC para porcentajes de recuperación, precisión y coeficientes de variación.
- De acuerdo a los resultados obtenidos en el proceso de validación de los métodos analíticos para la determinación de Ortofosfatos y Fosforo total se confirma que los métodos pueden ser aplicados a las matrices de agua potable, residual y natural, además se articula con el sistema de calidad analítica del laboratorio garantizando la efectividad de los resultados que se obtendrían para las diferentes muestras que se analicen en el laboratorio.
- El valor del límite de detección del método para Ortofosfatos y Fósforo total es de  $0.002 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$ , y  $0.013 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  respectivamente, es decir, la concentración mínima de sustancia que puede ser detectada por los métodos validados.
- El valor del límite de cuantificación experimental del método para Ortofosfatos y Fosforo Total es de  $0.05 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$ , y  $0.1 \text{ mgP-PO}_4^{3-}/\text{L}$  respectivamente, estos valores corresponden a la concentración mínima que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables, además corresponden al primer punto de la curva de calibrado en ambos casos.

## 7. RECOMENDACIONES

Para la determinación de Ortofosfatos y Fosforo total en agua natural, residual y potable, se deben tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Se debe realizar una prueba de efectividad del reactivo combinado, para garantizar la estabilidad de los reactivos (**Tartrato de antimonio y potasio y Molibdato de amonio**) utilizados en la preparación de este.
- En el análisis de fósforo total se debe garantizar que la concentración de iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) se mantenga después del proceso de neutralización, para que no existan errores de absorbancia en las lecturas espectrofotométricas y por ende en sus concentraciones.
- Para el análisis de Ortofosfatos y Fosforo Total se deberá utilizar la metodología estandarizada, y para la emisión de los resultados analíticos se deberá utilizar la incertidumbre calculada en el reporte de datos.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. (2016). Guidelines for Standard Method Performance Requirements. En *AOAC Official Methods of Analysis*. Appendix F.
- APHA, AWWA, & WEF. (2017). «*Standard Methods*» *For the Examination of Water* (23 ed.). Madrid: Díaz de Santos, S. A.
- Behran, J. (1996). *Fundamentos De La Quimica General E Inorganica*. Barcelona: Reverté.
- Dosal, M. A., & Villanueva-Marzo, M. (2008). INTRODUCCIÓN A LA METROLOGÍA QUÍMICA - CURVAS DE CALIBRACIÓN EN LOS MÉTODOS ANALÍTICOS. En *Antología de Química Analítica Experimental*.
- EURACHEM/CITAC. (2012). *Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas* (1 ed.). España: Eurolab.
- Eurolab. (2016). Guía Eurachem: La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos- Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. En E.-E. P. Colaboradores.
- Gomez-Garcés. (2014). validación de un método analítico para la determinación de fósforo total en agua potable mediante el método del ácido ascórbico . Montería: Universidad de Córdoba.
- Gutiérrez, M. R.-A. (1994). *Ecología de aguas continentales: prácticas de limnología* (Vol. 1). EDITUM.
- Harris, D. (2011). *Análisis químico cuantitativo* (Quinta ed.). Reverte.

- Hurtado, M. J., & Silvente, V. B. (2012). Cómo aplicar las pruebas paramétricas bivariadas t de Student y ANOVA en SPSS. Caso Practico. *Revista d'Innovació i Recerca en Educació*, 5(2), 83-100.
- Icontec. (2005). Requisitos Generales Para La Competencia De Los Laboratorios De Ensayo y Calibracion. Bogota, Colombia.
- IDEAM. (2006). Estandarización De Métodos Analíticos. En *Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales* (págs. 1–7). Ideam 63.
- IDEAM. (2007). FOSFORO SOLUBLE EN AGUA POR EL METODO DEL ACIDO ASCORBICO. En *Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales* (págs. 1-11). Ideam 03.
- Instituto de Salud Publica. (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: " Aspectos generales sobre la validación de métodos "*. Chile.
- Knowlton, K., Herbein, J., Meister-Weisbarth, M., & Wark, W. (2001). Nitrogen and Phosphorus Partitioning in Lactating Holstein Cows Fed Different Sources of Dietary Protein and Phosphorus. *Journal of Dairy Science*, 1210-1217.
- Lopez-Lopez, P. (2008). validacion de los metodos analiticos: determinacion de fosfatos por el metodo del acido ascorbico e hierro total por el metodo de la fenantrolina en aguas naturales y residuales. Monteria: Universidad de Cordoba.

- McDowell, R., & Condron, L. (2007). Influence of soil constituents on soil phosphorus sorption and desorption. *Communications in soil science and Plant Analysis*, 2531-2547.
- Mercado-Camargo, J. (2017). VALIDACION DE LA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA DETERMINACION DE FOSFATO EN AGUA POTABLE POR ESPECTROFOTOMETIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE- METODO DEL AZUL DE MOLIBDENO CON ACIDO ASCORBICO. Cartagena, Colombia: Universidad de Cartagena.
- Miller, N., & Miller, J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. . Madrid: Pearson Educación. S.A .
- Molina, S. (2012.). Estandarización de métodos de análisis para la determinación de nitratos, nitritos, compuestos fenólicos y, aceites y grasas utilizando como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.
- Monge-Nájera, J. (2002). *Biología General*. Costa Rica: EUNED.
- Olsen, E. D. (1990). *Métodos ópticos de análisis*. Reverte.
- Pabón, J. D., & Chaparro, R. (2001). Colombia en el ambiente global . En IDEAM, *EL MEDIO AMBIENTE EN COLOMBIA* . Bogotá.
- Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (1992). *BIOLOGIA DE LAS PLANTAS* . Barcelona: Reverté.

- Records, R. M., Wohl, E., & Mazdak. (2016). Phosphorus in the river corridor. *Arabi Earth-Science Reviews* 158, 65–88.
- Ribera, L. V., & Morales, Y. C. (2012). VALIDACION RETROSPECTIVA DEL METODO ANALITICO POR ESPECTROFOTOMETRIA PARA LA CUANTIFICACION DEL ACETAMINOFENO (Industrias Farmaceuticas IFA). *Revistas Bolivarianas*, 34-43.
- Rodriguez, V., & Simon, E. (2008). *Bases De Nutricion Humana*. Galicia, España: Netbiblo.
- Romero-Rojas, J. A. (2002). *Calidad del Agua*. Bogota, Colombia: Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería.
- Rubinson, K. A., & Rubinson, J. F. (2001). *ANALISIS INSTRUMENTAL*. Madrid: PEARSON EDUCACION, S.A.
- Sanchez-Salazar, A. (2011). VALIDACION DE LAS TECNICAS HIERRO TOTAL Y FOSFATOS EN AGUA EN EL LABORATORIO ALISCCA LTDA. Universidad tecnologica de Pereira.
- Sandoval, S. (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”*.
- Severiche-Sierra, H., & González-García. (2012). Determinación de fosfatos en aguas por método colorimétrico. *Validación del método*. Química Hoy. Chemistry Sciences.
- Sharpley, A. N., Smith, S., Jones, O., Berg, W., & Coleman, G. (1992). The Transport of Bioavailable Phosphorus in Agricultural Runoff. *Journal of Environmental Quality Abstract*, 30-35.

- Skoog, D. A., Holler, J. F., & Crouch., S. R. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (Vol. 53). CENGAGE Learning.
- Van Horn, H., G. Newton, R., Nordstedt, E., French, G., Kidder, D., Graetz, & Chambliss., C. (1991). *Dairy manure management: Strategies for recycling nutrients to recover fertilizer value and avoid environmental pollution*. Florida: Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences. U.S.A.
- Walker, F. (2000). *Best management practices for phosphorus in the environment* (Vol. Publication No. 1645). Tennessee: The University of Tennessee.
- Worsfold, P. J., McKelvie, I. D., & Monbet., P. (2016). Determination of phosphorus in natural waters: A historical review. En *Analytica Chimica Acta* (Vol. 918, págs. 8-20). board.
- Yan, Z., Peñuelas, J., Sardans, J., & et-al. (2016). “Phosphorus accumulates faster than nitrogen globally in freshwater ecosystems under anthropogenic impacts”. *Ecology Letters*, 1237-1246.

## 9. ANEXOS

### ANEXO A. LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

#### Ortofosfatos

**Tabla A1.** Réplicas de blancos

BLANCO	Abs.
1	-0.002
2	-0.001
3	-0.003
4	-0.003
5	-0.003
6	-0.002
7	0.000
Promedio	-0.002
Desviación estándar	0.001
T para Rechazo	1.94
Valor mínimo	-0.003
Valor máximo	0.000
T bajo	0.87
T alto	1.73
L.D.I	0.002
L.D.M	0.002
L.C	0.02

**Tabla A2.** Límite de Cuantificación

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO		
0.05 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E
1	0.052	4.54
2	0.052	4.54
3	0.049	1.78
4	0.052	4.54
5	0.051	1.38
6	0.049	1.78
7	0.049	1.78
Promedio	0.051	
Desviación estándar	0.002	
% CV	3.1	

**Tabla A3.** Réplicas de estándares

Ensayo	0.02 mg P- PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.03 mg P- PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.04 mg P- PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.05 mg P- PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E
1	0.015	25.31	0.036	18.58	0.035	12.76	0.052	4.54
2	0.016	20.35	0.025	14.75	0.036	8.82	0.052	4.54
3	0.015	25.01	0.026	15.62	0.035	12.76	0.049	1.78
4	0.016	20.38	0.033	15.62	0.035	12.76	0.052	4.54
5	0.015	20.31	0.025	9.12	0.035	12.76	0.051	1.38
6	0.018	12.22	0.026	13.35	0.035	12.76	0.049	1.78
7	0.018	12.43	0.025	15.62	0.035	12.76	0.049	1.78
Promedio	0.016	19.48	0.028	14.66	0.035	12.20	0.051	2.91
Desviación estándar	0.001		0.005		0.001		0.002	
% CV	6.6		16.2		1.8		3.1	
T para Rechazo	1.94		1.94		1.94		1.94	
Valor mínimo	0.015		0.025		0.035		0.049	
Valor máximo	0.018		0.036		0.036		0.052	
T bajo	1.10		0.59		0.35		1.00	
T alto	1.33		1.67		2.10		1.00	

**Tabla A4.** Coeficientes Curva de calibrado para Ortofosfatos

	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0.00390206	0.00226768	1.72073	0.1459
Pendiente	0.631691	0.0042436	148.857	0.0000

**Tabla A5.** Análisis de varianza (ANOVA) de la curva de calibrado para Ortofosfatos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0.341082	1	0.341082	22158.48	0.0000
Residuo	0.0000769643	5	0.0000153929		
Total (Corr.)	0.341159	6			

## Fósforo Total

**Tabla A6.** Réplicas de blancos

BLANCO	Abs.
1	0.000
2	0.003
3	0.001
4	-0.004

5	-0.005
6	-0.004
7	0.000
Promedio	-0.001
Desviación estándar	0.003
T para Rechazo	1.94
Valor mínimo	-0.005
Valor máximo	0.003
T bajo	1.22
T alto	1.41
L.D.I	0.005
L.D.M	0.013
L.C	0.05

**Tabla A7.** Límite de Cuantificación

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO		
0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E
1	0.102	2.42
2	0.098	2.42
3	0.104	4.04
4	0.099	0.81
5	0.096	4.04
6	0.099	0.81
7	0.099	0.81
Promedio	0.100	
Desviación estándar	0.003	
% CV	2.8	

**Tabla A8.** Réplicas de estándares

Ensayo	0.05 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.07 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.08 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.08 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%E
1	0.023	53.35	0.099	41.70	0.067	16.36	0.073	18.48	0.102	2.42
2	0.027	46.89	0.098	39.40	0.065	18.38	0.073	18.48	0.098	2.42
3	0.041	17.84	0.069	2.11	0.064	20.40	0.083	7.72	0.104	4.04
4	0.038	24.29	0.054	22.86	0.065	18.38	0.112	24.56	0.099	0.81
5	0.039	21.07	0.062	11.33	0.064	20.40	0.064	29.24	0.096	4.04
6	0.038	24.29	0.048	32.09	0.081	1.80	0.099	10.21	0.099	0.81
7	0.027	46.89	0.067	4.42	0.064	20.40	0.102	13.80	0.099	0.81
Promedio	0.033	33.52	0.071	21.99	0.067	16.59	0.087	17.50	0.100	2.19
Desviación estándar	0.007		0.020		0.006		0.018		0.003	
% CV	22.3		28.5		9.6		20.8		2.8	
T para Rechazo	1.94		1.94		1.94		1.94		1.94	
Valor mínimo	0.023		0.048		0.064		0.064		0.096	
Valor máximo	0.041		0.099		0.081		0.112		0.104	
T bajo	1.34		1.15		0.54		1.28		1.34	
T alto	1.06		1.41		2.23		1.41		1.59	



**Tabla A9.** Coeficientes Curva de calibrado para Fósforo Total

	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0.00688219	0.00299268	2.29968	0.0830
Pendiente	0.61926	0.00493105	125.584	0.0000

**Tabla A10.** Análisis de varianza (ANOVA) de la curva de calibrado para Fósforo Total

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0.233286	1	0.233286	15771.30	0.0000
Residuo	0.0000591671	4	0.0000147918		
Total (Corr.)	0.233345	5			

## ANEXO B. TEST DE LINEALIDAD

### Ortofosfatos

**Tabla B1.** Datos de absorbancia para la curva de calibrado

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	Absorbancia Promedio
0.05	0.034	
0.05	0.034	0.034
0.05	0.034	
0.08	0.051	
0.08	0.051	0.051
0.08	0.051	
0.1	0.064	
0.1	0.067	0.064
0.1	0.063	
0.3	0.191	
0.3	0.193	0.196
0.3	0.203	
0.5	0.328	
0.5	0.318	0.324
0.5	0.325	
0.8	0.512	
0.8	0.512	0.512
0.8	0.512	
1	0.628	
1	0.631	0.631
1	0.634	

**Tabla B2.** Test de Cochran

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	f (y/x)	Promedio f	S	S <sup>2</sup>
	0.034	0.680			
0.05	0.034	0.680	0.680	0.000	0.000
	0.034	0.680			
	0.051	0.638			
0.08	0.051	0.638	0.638	0.000	0.000
	0.051	0.638			
	0.064	0.643			
0.1	0.067	0.670	0.648	0.020	0.000
	0.063	0.630			
0.3	0.191	0.637	0.652	0.021	0.000

	0.193	0.643			
	0.203	0.677			
	0.328	0.656			
0.5	0.318	0.636	0.647	0.010	0.000
	0.325	0.650			
	0.512	0.640			
0.8	0.512	0.640	0.640	0.000	0.000
	0.512	0.640			
	0.628	0.628			
1	0.631	0.631	0.631	0.003	0.000
	0.634	0.634			

$$\sum S^2 \quad 0.001$$

$G_{Exp}$	0.463
$G_{tabla}$	0.561

**Tabla B3.** Coeficiente de variación del factor de respuesta

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	f (y/x)	Promedio de f	S	% CV
	0.034	0.680			
0.05	0.034	0.680			
	0.034	0.680			
	0.051	0.638			
0.08	0.051	0.638			
	0.051	0.638			
	0.064	0.643			
0.1	0.067	0.670			
	0.063	0.630			
	0.191	0.637			
0.3	0.193	0.643	0.648	0.01803041	2.783
	0.203	0.677			
	0.328	0.656			
0.5	0.318	0.636			
	0.325	0.650			
	0.512	0.640			
0.8	0.512	0.640			
	0.512	0.640			
	0.628	0.628			
1	0.631	0.631			
	0.634	0.634			

**Tabla B4.** Test significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	$\chi^2$	Residuos	Residuos <sup>2</sup>
0.05	0.034	0.003	-0.001	0.000
0.05	0.034	0.003	-0.001	0.000
0.05	0.034	0.003	-0.001	0.000

	0.08	0.051	0.006	-0.003	0.000
	0.08	0.051	0.006	-0.003	0.000
	0.08	0.051	0.006	-0.003	0.000
	0.1	0.064	0.010	-0.002	0.000
	0.1	0.067	0.010	0.001	0.000
	0.1	0.063	0.010	-0.003	0.000
	0.3	0.191	0.090	-0.002	0.000
	0.3	0.193	0.090	0.000	0.000
	0.3	0.203	0.090	0.010	0.000
	0.5	0.328	0.250	0.009	0.000
	0.5	0.318	0.250	-0.001	0.000
	0.8	0.325	0.250	0.006	0.000
	0.8	0.512	0.640	0.003	0.000
	0.8	0.512	0.640	0.003	0.000
	0.8	0.512	0.640	0.003	0.000
	1	0.628	1.000	-0.008	0.000
	1	0.631	1.000	-0.005	0.000
	1	0.634	1.000	-0.002	0.000
$\Sigma$	8.490		5.997		0.000

$S^2_{x,y}$	1.9E-05
$S^2_b$	7.4E-06
$S_b$	0.003
Pendiente $ b $	0.633
$T_{(Exp)}$	232.524
$T_{(Tabla)}$	2.093

**Tabla B5.** Test de Grubbs para la curva de calibrado

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancias
0.05	0.034
0.08	0.051
0.1	0.064
0.3	0.196
0.5	0.324
0.8	0.512
1	0.631
Promedio	0.259
Desviación estándar	0.239
Valor mínimo	0.034
Valor máximo	0.631
T bajo	0.94
T alto	1.56
T para Rechazo	1.94

**Tabla B6.** Test estadístico para linealidad

Datos arrojados por Statgraphics Centurion XVII.II		
Test	Durbin-Watson	Normalidad Shapiro-Wilks
P- valor	0.0876	0.0976974
Coeficiente de Correlación = 0.999887		
R-cuadrada = 99.9774 por ciento		
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99.9729 por ciento		
Error estándar del est. = 0.00392337		
Error absoluto medio = 0.00317188		
Estadístico Durbin-Watson = 1.50177 (P=0.0876)		
Auto correlación de residuos en retraso 1 = 0.0971845		

### Fósforo Total

**Tabla B7.** Datos de absorbancia para la curva de calibrado

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	Absorbancia Promedio
0.1	0.066	0.065
0.1	0.064	
0.1	0.065	
0.2	0.128	0.131
0.2	0.133	
0.2	0.132	
0.4	0.260	0.258
0.4	0.255	
0.4	0.258	
0.6	0.383	0.383
0.6	0.382	
0.6	0.383	
0.8	0.503	0.499
0.8	0.494	
0.8	0.499	
1	0.625	0.625
1	0.625	
1	0.624	

**Tabla B8.** Test de Cochran

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	f (y/x)	Promedio f	S	S <sup>2</sup>
0.1	0.066	0.660	0.650	0.010	0.000

	0.064	0.640			
	0.065	0.650			
	0.128	0.640			
0.2	0.133	0.665	0.655	0.013	0.000
	0.132	0.660			
	0.260	0.650			
0.4	0.255	0.638	0.644	0.006	0.000
	0.258	0.645			
	0.383	0.638			
0.6	0.382	0.637	0.638	0.001	0.000
	0.383	0.638			
	0.503	0.629			
0.8	0.494	0.618	0.623	0.006	0.000
	0.499	0.623			
	0.625	0.625			
1	0.625	0.625	0.625	0.001	0.000
	0.624	0.624			

$$\sum S^2 \quad 0.000$$

$G_{Exp}$	0.091
$G_{tabla}$	0.616

**Tabla B9.** Coeficiente de variación del factor de respuesta

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	f (y/x)	Promedio de f	S	% CV
	0.066	0.660			
0.1	0.064	0.640			
	0.065	0.650			
	0.128	0.640			
0.2	0.133	0.665			
	0.132	0.660			
	0.260	0.650			
0.4	0.255	0.638			
	0.258	0.645	0.639	0.014	2.171
	0.383	0.638			
0.6	0.382	0.637			
	0.383	0.638			
	0.503	0.629			
0.8	0.494	0.618			
	0.499	0.623			
	0.625	0.625			
1	0.625	0.625			
	0.624	0.624			

**Tabla B10.** Test significancia estadística de la desviación estándar de la pendiente

	Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancia	$\chi^2$	Residuos	Residuos <sup>2</sup>
	0.1	0.066	0.01	-0.003	0.000
	0.1	0.064	0.01	-0.005	0.000
	0.1	0.065	0.01	-0.004	0.000
	0.2	0.128	0.04	-0.003	0.000
	0.2	0.133	0.04	0.002	0.000
	0.2	0.132	0.04	0.001	0.000
	0.4	0.260	0.16	0.006	0.000
	0.4	0.255	0.16	0.001	0.000
	0.4	0.258	0.16	0.004	0.000
	0.6	0.383	0.36	0.005	0.000
	0.6	0.382	0.36	0.004	0.000
	0.6	0.383	0.36	0.005	0.000
	0.8	0.503	0.64	0.001	0.000
	0.8	0.494	0.64	-0.008	0.000
	0.8	0.499	0.64	-0.003	0.000
	1	0.625	1	-0.001	0.000
	1	0.625	1	-0.001	0.000
	1	0.624	1	-0.002	0.000
<b>Σ</b>	9.3		6.63		0.000

$S^2_{x,y}$	1.5E-05
$S^2_b$	8.3E-06
$S_b$	0.003
Pendiente $ b $	0.619
$T_{(Exp)}$	214.852
$T_{(Tabla)}$	2.12

**Tabla B11.** Test de Grubbs para la curva de calibrado

Concentración (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L)	Absorbancias
0.05	0.065
0.08	0.131
0.1	0.258
0.3	0.383
0.5	0.499
0.8	0.625
Promedio	0.327
Desviación estándar	0.216
Valor mínimo	0.065
Valor máximo	0.625
T bajo	1.21
T alto	1.38
T para Rechazo	1.82

**Tabla B12.** Test estadístico para linealidad

Datos arrojados por Statgraphics Centurion XVII.II		
Test	Durbin-Watson	Normalidad Shapiro-Wilks
P- valor	0.0911	0.713918
Coeficiente de Correlación = 0.999873		
R-cuadrada = 99.9746 por ciento		
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99.9683 por ciento		
Error estándar del est. = 0.00384601		
Error absoluto medio = 0.00274703		
Estadístico Durbin-Watson = 1.59029 (P=0.0911)		
Auto correlación de residuos en retraso 1 = 0.0712681		



## ANEXO C. PRECISIÓN

### Ortofosfatos

**Tabla C1.** Test de rechazo de datos para Rango Bajo

ESTANDAR BAJO DE 0,1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L					
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 Sin dato atípico	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.097	0.104	0.097	0.097	0.097
2	0.098	0.098	0.092	0.095	0.098
3	0.098	0.104	0.095	0.097	0.098
4	0.098	0.101	0.097	0.095	0.098
5	0.097	0.104	0.095	0.097	0.097
6	0.095	0.106	0.097	0.095	0.095
7	0.098	0.103	0.095		0.098
Promedio	0.097	0.103	0.095	0.096	0.097
Valor Mínimo	0.095	0.098	0.092	0.095	0.095
Valor Máximo	0.10	0.11	0.10	0.097	0.10
t bajo	1.82	1.88	2.00	0.91	1.82
t alto	0.73	1.11	0.80	0.91	0.73
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.82	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	6	7
Nro. datos OK	7	7	6	6	7

**Tabla C2.** Test de rechazo de datos para Rango Medio

ESTANDAR MEDIO DE 0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.412	0.420	0.401	0.414
2	0.395	0.419	0.405	0.416
3	0.414	0.405	0.398	0.412
4	0.412	0.412	0.406	0.420
5	0.401	0.401	0.395	0.409
6	0.405	0.417	0.405	0.400
7	0.400	0.412	0.401	0.408
Promedio	0.406	0.412	0.402	0.411
Valor Mínimo	0.395	0.401	0.395	0.400
Valor Máximo	0.414	0.420	0.406	0.420
t bajo	1.43	1.54	1.67	1.75
t alto	1.13	1.10	1.15	1.38
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	7

Nro. datos OK

7

7

7

7

**Tabla C3.** Test de rechazo de datos para Rango Alto

ESTANDAR ALTO DE 0.8 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L					
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1 Sin dato atípico	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.822	0.818	0.833	0.822	0.831
2	0.818	0.822	0.818	0.818	0.828
3	0.818	0.844	0.822	0.818	0.834
4	0.823	0.845	0.825	0.823	0.817
5	0.823	0.806	0.820	0.823	0.828
6	0.825	0.841	0.814	0.825	0.833
7	0.869	0.845	0.828		0.825
Promedio	0.828	0.832	0.823	0.822	0.828
Valor Mínimo	0.818	0.806	0.814	0.818	0.817
Valor Máximo	0.869	0.845	0.833	0.825	0.834
t bajo	0.55	1.61	1.43	1.20	1.89
t alto	2.25	0.86	1.58	1.20	1.08
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.82	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	6	7
Nro. datos OK	6	7	7	6	7

**Tabla C4.** Test de rechazo de datos para muestras de agua

RÉPLICAS	AGUA POTABLE			AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL		
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	0.073	0.071	0.073	0.278	0.267	0.269	0.337	0.329	0.310
2	0.071	0.070	0.071	0.283	0.267	0.277	0.337	0.321	0.322
3	0.071	0.071	0.071	0.280	0.280	0.280	0.335	0.321	0.321
4	0.071	0.073	0.070	0.280	0.273	0.275	0.337	0.327	0.313
5	0.071	0.070	0.074	0.275	0.277	0.269	0.338	0.324	0.313
6	0.071	0.071	0.073	0.275	0.267	0.278	0.335	0.329	0.321
7	0.073	0.071	0.070	0.280	0.269	0.272	0.337	0.329	0.315
Promedio	0.07	0.07	0.07	0.28	0.27	0.27	0.34	0.33	0.32
Valor Mínimo	0.07	0.07	0.07	0.28	0.27	0.27	0.34	0.32	0.31
Valor Máximo	0.07	0.07	0.07	0.28	0.28	0.28	0.34	0.33	0.32
t bajo	0.59	1.24	1.16	1.27	0.82	1.22	1.24	1.30	1.32
t alto	1.46	1.66	1.54	1.51	1.60	1.27	1.66	0.87	1.23
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Nro. datos OK	7	7	7	7	7	7	7	7	7

**Tabla C5.** Repetibilidad de Muestra

RÉPLICAS	AGUA POTABLE			AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL		
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	0.073	0.071	0.073	0.278	0.267	0.269	0.337	0.329	0.310
2	0.071	0.070	0.071	0.283	0.267	0.277	0.337	0.321	0.322
3	0.071	0.071	0.071	0.280	0.280	0.280	0.335	0.321	0.321
4	0.071	0.073	0.070	0.280	0.273	0.275	0.337	0.327	0.313
5	0.071	0.070	0.074	0.275	0.277	0.269	0.338	0.324	0.313
6	0.071	0.071	0.073	0.275	0.267	0.278	0.335	0.329	0.321
7	0.073	0.071	0.070	0.280	0.269	0.272	0.337	0.329	0.315
Promedio	0.071	0.071	0.071	0.278	0.271	0.274	0.336	0.326	0.316
Desviación estándar	0.0006	0.0011	0.0018	0.0028	0.0052	0.0045	0.001	0.004	0.005
% CV	0.90	1.54	2.45	1.02	1.92	1.63	0.32	1.12	1.56
Promedio general	0.0715			0.2747			0.326		
Desviación estándar general	0.0013			0.0051			0.009		
% CV general	1.75			1.85			2.78		

**Tabla C6.** Test de rechazo de datos para adicionados de muestras de agua

RÉPLICAS	ADICIONADO DE 0,1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L			ADICIONADO DE 0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L						
	AGUA POTABLE			AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL			
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 Sin dato atípico
1	0.175	0.175	0.168	0.657	0.659	0.649	0.738	0.722	0.698	0.698
2	0.177	0.172	0.166	0.664	0.656	0.672	0.741	0.722	0.695	0.695
3	0.174	0.180	0.164	0.660	0.649	0.653	0.743	0.728	0.695	0.695
4	0.179	0.172	0.169	0.654	0.668	0.660	0.738	0.724	0.695	0.695
5	0.175	0.179	0.168	0.659	0.649	0.651	0.741	0.724	0.717	0.697
6	0.175	0.172	0.169	0.662	0.651	0.678	0.739	0.728	0.697	0.695
7	0.175	0.174	0.171	0.670	0.657	0.670	0.739	0.728	0.695	
Promedio	0.18	0.18	0.17	0.66	0.66	0.66	0.74	0.73	0.699	0.696
Valor Mínimo	0.17	0.17	0.16	0.65	0.65	0.65	0.74	0.72	0.695	0.695
Valor Máximo	0.18	0.18	0.17	0.67	0.67	0.68	0.74	0.73	0.717	0.698
t bajo	1.35	0.83	1.59	1.34	0.93	1.09	1.16	1.04	0.47	0.60
t alto	1.80	1.60	1.38	1.79	1.87	1.41	1.54	1.04	2.24	1.79
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.82
Nro. total de datos	7	7	7	7	7	7	7	7	7	6

Nro. datos	7	7	7	7	7	7	7	7	6	6
OK										

**Tabla C7.** Repetibilidad para adiciones de muestra de agua potable

ADICIONADO	0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L AGUA POTABLE			0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L AGUA NATURAL			0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L AGUA RESIDUAL			
	RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1		0.175	0.175	0.168	0.657	0.659	0.649	0.738	0.722	0.698
2		0.177	0.172	0.166	0.664	0.656	0.672	0.741	0.722	0.695
3		0.174	0.180	0.164	0.660	0.649	0.653	0.743	0.728	0.695
4		0.179	0.172	0.169	0.654	0.668	0.660	0.738	0.724	0.695
5		0.175	0.179	0.168	0.659	0.649	0.651	0.741	0.724	0.697
6		0.175	0.172	0.169	0.662	0.651	0.678	0.739	0.728	0.695
7		0.175	0.174	0.171	0.670	0.657	0.670	0.739	0.728	
Promedio		0.1759	0.1750	0.1678	0.660	0.656	0.662	0.734	0.725	0.696
Desviación estándar		0.0015	0.0033	0.0021	0.005	0.007	0.011	0.002	0.003	0.001
% CV		0.85	1.86	1.27	0.76	1.03	1.72	0.24	0.42	0.19
Promedio general		0.1729			0.6595			0.722		
Desviación estándar general		0.004			0.008			0.018		
% CV general		2.53			1.25			2.55		
Fósforo Total										

**Tabla C8.** Test de rechazo de datos para Rango Bajo

ESTANDAR BAJO DE 0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.246	0.244	0.244	0.236
2	0.248	0.249	0.246	0.236
3	0.253	0.251	0.241	0.251
4	0.240	0.246	0.259	0.240
5	0.249	0.248	0.246	0.244
6	0.248	0.248	0.259	0.238
7	0.257	0.251	0.246	0.240
Promedio	0.249	0.248	0.249	0.241
Valor Mínimo	0.240	0.244	0.241	0.236
Valor Máximo	0.257	0.251	0.259	0.251
t bajo	1.63	1.53	1.07	0.83
t alto	1.59	1.15	1.42	1.93
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	7
Nro. datos OK	7	7	7	7

**Tabla C9.** Test de rechazo de datos para Rango Medio

ESTANDAR MEDIO DE 0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.553	0.566	0.559	0.554
2	0.564	0.558	0.553	0.553
3	0.558	0.559	0.564	0.551
4	0.548	0.550	0.564	0.548
5	0.558	0.553	0.550	0.553
6	0.567	0.553	0.566	0.550
7	0.567	0.554	0.559	0.548
Promedio	0.559	0.556	0.559	0.551
Valor Mínimo	0.548	0.550	0.550	0.548
Valor Máximo	0.567	0.566	0.566	0.554
t bajo	1.53	1.21	1.58	1.18
t alto	1.09	1.81	1.06	1.36
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	7
Nro. datos OK	7	7	7	7

**Tabla C10.** Test de rechazo de datos para Rango Alto

ESTANDAR ALTO DE 0.75 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L					
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 2 Sin dato atípico	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.779	0.761	0.774	0.761	0.751
2	0.764	0.779	0.780	0.779	0.763
3	0.758	0.780	0.751	0.780	0.746
4	0.769	0.743	0.763	0.774	0.767
5	0.774	0.774	0.771	0.771	0.758
6	0.785	0.771	0.779	0.776	0.763
7	0.779	0.776	0.748		0.763
Promedio	0.773	0.769	0.767	0.773	0.759
Valor Mínimo	0.758	0.743	0.748	0.761	0.746
Valor Máximo	0.785	0.780	0.780	0.780	0.767
t bajo	1.56	1.98	1.43	1.77	1.65
t alto	1.34	0.87	1.07	1.00	1.19
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.82	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	6	7
Nro. datos OK	7	6	7	6	7

**Tabla C11.** Test de rechazo de datos para muestras de agua

AGUA NATURAL				AGUA RESIDUAL		
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	0.203	0.209	0.199	0.345	0.324	0.317
2	0.223	0.206	0.212	0.351	0.317	0.309

3	0.199	0.199	0.219	0.348	0.327	0.319
4	0.203	0.207	0.207	0.343	0.317	0.311
5	0.217	0.211	0.212	0.351	0.320	0.314
6	0.207	0.212	0.209	0.338	0.317	0.319
7	0.212	0.217	0.204	0.338	0.322	0.312
Promedio	0.21	0.21	0.21	0.34	0.32	0.31
Valor Mínimo	0.20	0.20	0.20	0.34	0.32	0.31
Valor Máximo	0.22	0.22	0.22	0.35	0.33	0.32
t bajo	1.13	1.70	1.55	1.22	0.92	1.35
t alto	1.62	1.50	1.55	1.14	1.65	1.12
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	7	7	7
Nro. datos OK	7	7	7	7	7	7

**Tabla C12.** Repetibilidad muestras de agua

RÉPLICAS	AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL		
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	0.203	0.209	0.199	0.345	0.324	0.317
2	0.223	0.206	0.212	0.351	0.317	0.309
3	0.199	0.199	0.219	0.348	0.327	0.319
4	0.203	0.207	0.207	0.343	0.317	0.311
5	0.217	0.211	0.212	0.351	0.320	0.314
6	0.207	0.212	0.209	0.338	0.317	0.319
7	0.212	0.217	0.204	0.338	0.322	0.312
Promedio	0.209	0.209	0.209	0.345	0.321	0.314
Desviación estándar	0.009	0.006	0.006	0.005	0.004	0.004
% CV	4.21	2.66	2.99	1.59	1.18	1.25
Promedio general	0.2090			0.326		
Desviación estándar general	0.0067			0.014		
% CV general	3.19			4.32		

**Tabla C13.** Test de rechazo de datos para adicionados de muestras de agua

ADICIONADO	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L			0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L		
	AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL		
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	0.472	0.474	0.474	0.916	0.874	0.858
2	0.480	0.472	0.464	0.887	0.882	0.859
3	0.472	0.470	0.472	0.910	0.880	0.880
4	0.470	0.472	0.477	0.905	0.882	0.864
5	0.472	0.472	0.477	0.872	0.890	0.872
6	0.477	0.475	0.472	0.908	0.884	0.882
7	0.480	0.474	0.462	0.882	0.868	0.872
Promedio	0.47	0.47	0.47	0.90	0.88	0.87
Valor Mínimo	0.47	0.47	0.46	0.87	0.87	0.86

Valor Máximo	0.48	0.48	0.48	0.92	0.89	0.88
t bajo	1.06	1.46	1.51	1.50	1.71	1.24
t alto	1.28	1.61	0.99	1.15	1.40	1.27
t para Rechazo	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94	1.94
Nro. total de datos	7	7	7	7	7	7
Nro. datos OK	7	7	7	7	7	7

**Tabla C14.** Repetibilidad para adicionados de muestra de agua

ADICIONADO	0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L			0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L		
	AGUA NATURAL			AGUA RESIDUAL		
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	0.472	0.474	0.474	0.916	0.874	0.858
2	0.480	0.472	0.464	0.887	0.882	0.859
3	0.472	0.470	0.472	0.910	0.880	0.880
4	0.470	0.472	0.477	0.905	0.882	0.864
5	0.472	0.472	0.477	0.872	0.890	0.872
6	0.477	0.475	0.472	0.908	0.884	0.882
7	0.480	0.474	0.462	0.882	0.868	0.872
Promedio	0.475	0.473	0.471	0.897	0.880	0.869
Desviación estándar	0.004	0.002	0.006	0.016	0.007	0.010
% CV	0.87	0.33	1.23	1.83	0.83	1.21
Promedio general	0.473			0.882		
Desviación estándar general	0.004			0.016		
% CV general	0.91			1.82		

## ANEXO D. EXACTITUD

### Ortofosfatos

**Tabla D1.** Porcentaje de Error Rango Bajo

ESTANDAR BAJO DE 0,1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 - Reproducibilidad
1	0.097	0.104	0.097	0.097
2	0.098	0.098	0.095	0.101
3	0.098	0.104	0.097	0.097
4	0.098	0.101	0.095	0.092
5	0.097	0.104	0.097	0.095
6	0.095	0.106	0.095	0.093
7	0.098	0.103		0.097
promedio	0.097	0.103	0.096	0.096
Desviación estándar	0.001	0.003	0.001	0.003
% CV	1.28	2.57	0.90	3.14
% de Error	2.82	3.05	4.29	4.17
promedio general	0.10		(1) Reproducibilidad entre días	
Desviación estándar (1)	0.004		(2) Reproducibilidad entre analistas	
% CV (1)	3.72			
% de Error general	1.21			
Exactitud	98.794			
Desviación estándar (2)	0.002			
% CV (2)	2.29			

**Tabla D2.** Porcentaje de Error Rango Medio

ESTANDAR MEDIO DE 0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 - Reproducibilidad
1	0.412	0.420	0.401	0.414
2	0.395	0.419	0.405	0.416
3	0.414	0.405	0.398	0.412
4	0.412	0.412	0.406	0.420
5	0.401	0.401	0.395	0.409
6	0.405	0.417	0.405	0.400
7	0.400	0.412	0.401	0.408
Promedio	0.406	0.412	0.402	0.411
Desviación estándar	0.007	0.007	0.004	0.007
% CV	1.82	1.74	0.97	1.59
% de Error	1.42	3.11	0.40	2.83
Promedio general	0.41		(1) Reproducibilidad entre días	
Desviación estándar (1)	0.008		(2) Reproducibilidad entre analistas	
% CV (1)	1.86			
% de Error general	1.65			



Exactitud	98.35
Desviación estándar (2)	0.007
% CV (2)	1.78

**Tabla D3.** Porcentaje de Error Rango Alto

ESTANDAR ALTO DE 0.8 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 Reproducibilidad
1	0.822	0.818	0.833	0.831
2	0.818	0.822	0.818	0.828
3	0.818	0.844	0.822	0.834
4	0.823	0.845	0.825	0.817
5	0.823	0.806	0.820	0.828
6	0.825	0.841	0.814	0.833
7		0.845	0.828	0.825
Promedio	0.822	0.832	0.823	0.828
Desviación estándar	0.003	0.016	0.006	0.006
% CV	0.32	1.93	0.77	0.71
% de Error	2.70	3.94	2.84	3.49
Promedio general	0.83	(1) Reproducibilidad entre días		
Desviación estándar (1)	0.011	(2) Reproducibilidad entre analistas		
% CV (1)	1.31			
% de Error general	3.18			
Exactitud	96.82			
Desviación estándar (2)	0.006			
% CV (2)	0.78			

**Tabla D4.** Porcentaje de Recuperación Para Muestra de Agua Potable Fortificadas

%R Matriz de agua potable con adición de 0.1 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L														
Día 1					Día 2					Día 3				
Agua Potable Sin adicionar			Agua Potable Adicionada			Agua Potable Sin adicionar			Agua Potable Adicionada			Agua Potable Sin adicionar		
Ensayo	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	% R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	% R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	% R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	% R
1	0.049	0.073	0.114	0.175	103.8	0.048	0.071	101.4	0.049	0.073	101.4	0.109	0.168	95.9
2	0.048	0.071	0.115	0.177	105.3	0.047	0.070	101.2	0.048	0.071	101.3	0.108	0.166	94.3
3	0.048	0.071	0.113	0.174	102.2	0.048	0.071	101.7	0.048	0.071	101.7	0.107	0.164	92.7
4	0.048	0.071	0.116	0.179	106.9	0.049	0.073	101.2	0.047	0.070	101.3	0.110	0.169	97.4
5	0.048	0.071	0.114	0.175	103.8	0.047	0.070	101.6	0.05	0.074	101.6	0.109	0.168	95.9
6	0.048	0.071	0.114	0.175	103.8	0.048	0.071	101.2	0.049	0.073	101.3	0.110	0.169	97.4
7	0.049	0.073	0.114	0.175	103.8	0.048	0.071	101.3	0.047	0.070	101.3	0.111	0.171	99.0

Promedio

0.072

0.071

0.072

**Tabla D5.** Porcentaje de Recuperación Para Muestra de Agua Natural Fortificada

%R Matriz de agua natural con adición de 0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L															
Día 1						Día 2					Día 3				
Agua Natural Sin adicionar			Agua Natural Adicionada			Agua Natural Sin adicionar			Agua Natural Adicionada		Agua Natural Sin adicionar			Agua Natural Adicionada	
Ensayo	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%R
1	0.179	0.278	0.419	0.657	94.7	0.172	0.267	0.420	0.659	96.9	0.173	0.269	0.414	0.649	93.8
2	0.182	0.283	0.423	0.664	96.3	0.172	0.267	0.418	0.656	96.1	0.178	0.277	0.428	0.672	99.4
3	0.180	0.280	0.421	0.660	95.5	0.180	0.280	0.414	0.649	94.5	0.180	0.280	0.416	0.653	94.6
4	0.180	0.280	0.417	0.654	93.9	0.176	0.273	0.426	0.668	99.2	0.177	0.275	0.421	0.660	96.6
5	0.177	0.275	0.420	0.659	95.1	0.178	0.277	0.414	0.649	94.5	0.173	0.269	0.415	0.651	94.2
6	0.177	0.275	0.422	0.662	95.9	0.172	0.267	0.415	0.651	94.9	0.179	0.278	0.432	0.678	100.9
7	0.180	0.280	0.419	0.657	94.7	0.173	0.269	0.419	0.657	96.5	0.175	0.272	0.427	0.670	99.0
Promedio	0.279					0.271					0.274				

**Tabla D6.** Porcentaje de Recuperación Para Muestra de Agua Residual Fortificada

%R Matriz de agua residual con adición de 0.4 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L															
Día 1						Día 2					Día 3				
Agua Residual Sin adicionar			Agua Residual Adicionada			Agua Residual Sin adicionar			Agua Residual Adicionada		Agua Residual Sin adicionar			Agua Residual Adicionada	
Ensayo	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	%R
1	0.216	0.216	0.470	0.738	100.4	0.211	0.329	0.46	0.722	99.1	0.199	0.310	0.445	0.698	95.5
2	0.216	0.216	0.472	0.741	101.2	0.206	0.321	0.46	0.722	99.1	0.207	0.322	0.443	0.695	94.7
3	0.215	0.215	0.473	0.743	101.6	0.206	0.321	0.464	0.728	100.7	0.206	0.321	0.443	0.695	94.7
4	0.216	0.216	0.470	0.738	100.4	0.210	0.327	0.461	0.724	99.5	0.201	0.313	0.443	0.695	94.7
5	0.217	0.217	0.472	0.741	101.2	0.208	0.324	0.461	0.724	99.5	0.201	0.313	0.457	0.717	100.3
6	0.215	0.215	0.471	0.739	100.8	0.211	0.329	0.464	0.728	100.7	0.206	0.321	0.444	0.697	95.1
7	0.216	0.216	0.471	0.739	100.8	0.211	0.329	0.464	0.728	100.7	0.202	0.315	0.443	0.695	94.7

Promedio

0.336

0.326

0.316

**Fósforo total****Tabla D7.** Porcentaje de Error Rango Bajo

ESTANDAR BAJO DE 0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 - Reproducibilidad
1	0.246	0.244	0.244	0.236
2	0.248	0.249	0.246	0.236
3	0.253	0.251	0.241	0.251
4	0.240	0.246	0.259	0.240
5	0.249	0.248	0.246	0.244
6	0.248	0.248	0.259	0.238
7	0.257	0.251	0.246	0.240
Promedio	0.249	0.248	0.249	0.241
Desviación estándar	0.006	0.002	0.007	0.005
% CV	2.21	0.97	2.87	2.18
% de Error	0.55	0.74	0.46	3.69
promedio general	0.249	(1) Reproducibilidad entre días		
Desviación estándar (1)	0.0051	(2) Reproducibilidad entre analistas		
% CV (1)	2.06			
% de Error general	0.58			
Exactitud	99.42			
Desviación estándar (2)	0.007			
% CV (2)	3.00			

**Tabla D8.** Porcentaje de Error Rango Medio

ESTANDAR MEDIO DE 0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 - Reproducibilidad
1	0.553	0.566	0.559	0.554
2	0.564	0.558	0.553	0.553
3	0.558	0.559	0.564	0.551
4	0.548	0.550	0.564	0.548
5	0.558	0.553	0.550	0.553
6	0.567	0.553	0.566	0.550
7	0.567	0.554	0.559	0.548
Promedio	0.559	0.556	0.559	0.551
Desviación estándar	0.007	0.005	0.006	0.003
% CV	1.32	0.96	1.09	0.46
% de Error	1.68	1.09	1.68	0.17
Promedio general	0.558	(1) Reproducibilidad entre días		
Desviación estándar (1)	0.006	(2) Reproducibilidad entre analistas		
% CV (1)	1.11			

% de Error general	1.48
Exactitud	98.52
Desviación estándar (2)	0.006
% CV (2)	1.12

**Tabla D9. Porcentaje de Error Rango Alto**

ESTANDAR ALTO DE 0.75 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L				
RÉPLICAS	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 3 - Reproducibilidad
1	0.779	0.761	0.774	0.751
2	0.764	0.779	0.780	0.763
3	0.758	0.780	0.751	0.746
4	0.769	0.774	0.763	0.767
5	0.774	0.771	0.771	0.758
6	0.785	0.776	0.779	0.763
7	0.779		0.748	0.763
Promedio	0.773	0.773	0.767	0.759
Desviación estándar	0.009	0.007	0.013	0.007
% CV	1.23	0.90	1.68	0.97
% de Error	3.01	3.12	2.21	1.16
Promedio general	0.771		(1) Reproducibilidad entre días	
Desviación estándar (1)	0.010		(2) Reproducibilidad entre analistas	
% CV (1)	1.32			
% de Error general	2.76			
Exactitud	97.24			
Desviación estándar (2)	0.010			
% CV (2)	1.43			

**Tabla D 10 Porcentaje de Recuperación Para Muestra de Agua Natural Fortificada**

%R Matriz de agua natural con adición de 0.25 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L														
Día 1					Día 2					Día 3				
Agua Natural Sin adicionar		Agua Natural Adicionada		%R	Agua Natural Sin adicionar		Agua Natural Adicionada		%R	Agua Natural Sin adicionar		Agua Natural Adicionada		%R
Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L		Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L		Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /L	
1	0.132	0.203	0.299	105.2	0.136	0.209	0.300	0.474	106.0	0.130	0.199	0.300	0.474	105.9
2	0.145	0.223	0.304	108.4	0.134	0.206	0.299	0.472	105.3	0.138	0.212	0.294	0.464	102.0
3	0.130	0.199	0.299	105.2	0.130	0.199	0.298	0.470	104.7	0.142	0.219	0.299	0.472	105.2
4	0.132	0.203	0.298	104.5	0.135	0.207	0.299	0.472	105.3	0.135	0.207	0.302	0.477	107.2
5	0.141	0.217	0.299	105.2	0.137	0.211	0.299	0.472	105.3	0.138	0.212	0.302	0.477	107.2
6	0.135	0.207	0.302	107.1	0.138	0.212	0.301	0.475	106.6	0.136	0.209	0.299	0.472	105.2

7	0.138	0.212	0.304	0.480	108.4	0.141	0.217	0.300	0.474	106.0	0.133	0.204	0.293	0.462	101.4
Promedio		0.209					0.209					0.209			

**Tabla D11. Porcentaje de Recuperación Para Muestra de Agua Residual Fortificada**

%R Matriz de agua residual con adición de 0.55 mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>															
Día 1						Día 2					Día 3				
Agua Residual Sin adicionar			Agua Residual Adicionada			Agua Residual Sin adicionar		Agua Residual Adicionada			Agua Residual Sin adicionar		Agua Residual Adicionada		
Ensayo	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>	%R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>	%R	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>	Absorbancia	mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-/L</sup>	%R
1	0.220	0.345	0.574	0.916	103.9	0.207	0.324	0.548	0.874	100.6	0.203	0.317	0.538	0.858	98.8
2	0.224	0.351	0.556	0.887	98.6	0.203	0.317	0.553	0.882	102.1	0.198	0.309	0.539	0.859	99.1
3	0.222	0.348	0.570	0.910	102.7	0.209	0.327	0.552	0.880	101.8	0.204	0.319	0.552	0.880	102.9
4	0.219	0.343	0.567	0.905	101.8	0.203	0.317	0.553	0.882	102.1	0.199	0.311	0.542	0.864	100.0
5	0.224	0.351	0.547	0.872	95.9	0.205	0.320	0.558	0.890	103.6	0.201	0.314	0.547	0.872	101.5
6	0.216	0.338	0.569	0.908	102.4	0.203	0.317	0.554	0.884	102.4	0.204	0.319	0.553	0.882	103.2
7	0.216	0.338	0.553	0.882	97.7	0.206	0.322	0.544	0.868	99.5	0.200	0.312	0.547	0.872	101.5
Promedio		0.345					0.321					0.314			

## ANEXO E. INCERTIDUMBRE

### Ortofosfatos

**Tabla E1.** Incertidumbre Expandida Rango Bajo

ESTÁNDAR DE 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) <sup>2</sup>
Incertidumbre Asociadas a la preparación del Estándar de 10 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Incertidumbre estándar trazable	1.00.E-06	1.00E-12
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3.36.E-04	1.13E-07
	Incertidumbre transfer usada en la preparación	1.99.E-02	3.96E-04
Incertidumbre Asociadas a los estándares usados para preparación de la curva	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.05 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	7.77.E-04	6.03E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.05 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.11.E-03	9.65E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.08 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	6.38.E-04	4.08E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.08 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.21.E-03	1.47E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	6.50.E-04	4.23E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.62.E-03	1.31E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.3 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.62.E-04	7.43E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.3 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.38.E-03	1.14E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.5 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	7.10.E-04	5.04E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.5 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	5.56.E-03	3.09E-05

	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	8.11.E-04	6.58E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	3.25.E-04	1.06E-07
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	7.03.E-04	4.94E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	7.55.E-04	5.70E-07
Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre reproducibilidad entre días y analistas	8.80.E-03	7.74E-05
Incertidumbre asociada preparación estándar bajo	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	6.38.E-04	4.08E-07
	Incertidumbre transfer pipeta usada para preparar el estándar	3.62.E-03	1.31E-05
Incertidumbre de la curva de calibrado	Incertidumbre de la curva de calibrado	2.51.E-02	6.32E-04

Sumatoria	1.19E-03
Raíz	3.45E-02
Incertidumbre final expandida	0.007
El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.100 +/- 0.007

**Tabla E2.** Incertidumbre Expandida Rango Medio

Incertidumbre Asociadas a la preparación del Estándar de  $10\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$

Incertidumbre Asociadas a los estándares usados para preparación de la curva

ESTÁNDAR DE $0.4\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$		
Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) <sup>2</sup>
Incertidumbre estándar trazable	1.00.E-06	1.00E-12
Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3.36.E-04	1.13E-07
Incertidumbre transfer usada en la preparación	1.99.E-02	3.96E-04
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $0.05\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	7.77.E-04	6.03E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $0.05\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	3.11.E-03	9.65E-06
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $0.08\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	6.38.E-04	4.08E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $0.08\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	1.21.E-03	1.47E-06
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $0.1\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	6.50.E-04	4.23E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $0.1\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	3.62.E-03	1.31E-05
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $0.3\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	8.62.E-04	7.43E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $0.3\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	3.38.E-03	1.14E-05
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $0.5\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	7.10.E-04	5.04E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $0.5\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	5.56.E-03	3.09E-05
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $0.8\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	8.11.E-04	6.58E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $0.8\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	3.25.E-04	1.06E-07
Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de $1\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	7.03.E-04	4.94E-07
Transfer pipeta usada para preparación de estándar de $1\text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	7.55.E-04	5.70E-07



Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre reproducibilidad entre días y analistas	1.84.E-02	3.40E-04
Incertidumbre asociada preparación estándar bajo	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	6.38.E-04	4.08E-07
	Incertidumbre transfer pipeta usada para preparar el estándar	9.61.E-03	9.23E-05
Incertidumbre de la curva de calibrado	Incertidumbre de la curva de calibrado	6.01.E-03	3.61E-05

Sumatoria	9.36E-04
Raíz	3.06E-02
Incertidumbre final expandida	0.024
El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.400 +/- 0.024

**Tabla E3.** Incertidumbre Expandida Rango alto

ESTÁNDAR DE $0.8 \text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) <sup>2</sup>
Incertidumbre Asociadas a la preparación del Estándar de $10 \text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	Incertidumbre estándar trazable	1.00.E-06	1.00E-12
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3.36.E-04	1.13E-07

Incertidumbre Asociadas a los estándares usados para preparación de la curva	Incertidumbre transfer usada en la preparación	1.99.E-02	3.96E-04
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.05 mg $P - PO_4^{3-}$	7.77.E-04	6.03E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.05 mg $P - PO_4^{3-}$	3.11.E-03	9.65E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.08 mg $P - PO_4^{3-}$	6.38.E-04	4.08E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.08 mg $P - PO_4^{3-}$	1.21.E-03	1.47E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.1 mg $P - PO_4^{3-}$	6.50.E-04	4.23E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.1 mg $P - PO_4^{3-}$	3.62.E-03	1.31E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.3 mg $P - PO_4^{3-}$	8.62.E-04	7.43E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.3 mg $P - PO_4^{3-}$	3.38.E-03	1.14E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.5 mg $P - PO_4^{3-}$	7.10.E-04	5.04E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.5 mg $P - PO_4^{3-}$	5.56.E-03	3.09E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	8.11.E-04	6.58E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	3.25.E-04	1.06E-07
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	7.03.E-04	4.94E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	7.55.E-04	5.70E-07
Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre reproducibilidad entre días y analistas	1.31.E-02	1.71E-04
Incertidumbre asociada preparación estándar bajo	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	2.99.E-04	8.94E-08
	Incertidumbre transfer pipeta usada para preparar el estándar	4.63.E-04	2.15E-07

Incertidumbre  
de la curva de  
calibrado

Incertidumbre de la curva de calibrado

3.24.E-03

1.05E-05

Sumatoria	6.49E-04
Raíz	2.55E-02
Incertidumbre final expandida	0.041
El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.800 +/- 0.041

### Fósforo Total

**Tabla E4.** Incertidumbre expandida rango bajo

ESTÁNDAR DE 0.25 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) <sup>2</sup>
Incertidumbre Asociadas a la preparación del Estándar de 10 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Incertidumbre estándar trazable	1.00.E-06	1.00E-12
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3.36.E-04	1.13E-07
	Incertidumbre transfer usada en la preparación	1.99.E-02	3.96E-04
Incertidumbre Asociadas a los estándares usados para preparación de	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.29.E-04	6.88E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.15.E-03	9.90E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.2 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.64.E-04	7.46E-07

Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.2 mg $P - PO_4^{3-}$	7.10.E-03	5.03E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.4 mg $P - PO_4^{3-}$	8.17.E-04	6.68E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.4 mg $P - PO_4^{3-}$	6.95.E-03	4.83E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.6 mg $P - PO_4^{3-}$	3.42.E-03	1.17E-05
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.6 mg $P - PO_4^{3-}$	3.70.E-03	1.37E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	8.37.E-04	7.01E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	5.50.E-03	3.03E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	8.37.E-04	7.00E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	3.44.E-03	1.18E-05
	Incertidumbre reproducibilidad entre días y analistas	8.80.E-03	7.74E-05
Incertidumbre asociada preparación estándar bajo	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	1.25.E-03	1.56E-06
	Incertidumbre transfer pipeta usada para preparar el estándar	3.22.E-03	1.04E-05
Incertidumbre de la curva de calibrado	Incertidumbre de la curva de calibrado	1.50.E-02	2.25E-04

Sumatoria	8.90E-04
Raíz	2.98E-02
Incertidumbre final expandida	0.015
El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.25 +/- 0.015

**Tabla E5.** Incertidumbre Expandida Rango Medio

ESTÁNDAR DE 0.55 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) <sup>2</sup>
Incertidumbre Asociadas a la preparación del Estándar de 10 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Incertidumbre estándar trazable	1.00.E-06	1.00E-12
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3.36.E-04	1.13E-07
	Incertidumbre transfer usada en la preparación	1.99.E-02	3.96E-04
Incertidumbre Asociadas a los estándares usados para preparación de la curva	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.29.E-04	6.88E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.15.E-03	9.90E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.2 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.64.E-04	7.46E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.2 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	7.10.E-03	5.03E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.4 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.17.E-04	6.68E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.4 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	6.95.E-03	4.83E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.6 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.42.E-03	1.17E-05
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.6 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.70.E-03	1.37E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.8 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.37.E-04	7.01E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.8 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	5.50.E-03	3.03E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.37.E-04	7.00E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 1 mg P – PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.44.E-03	1.18E-05

Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre reproducibilidad entre días y analistas	0.00.E+00	0.00E+00								
Incertidumbre asociada preparación estándar bajo	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	0.00.E+00	0.00E+00								
	Incertidumbre transfer pipeta usada para preparar el estándar	1.14.E-02	1.30E-04								
Incertidumbre de la curva de calibrado	Incertidumbre de la curva de calibrado	1.25.E-03	1.55E-06								
<table><tr><td>Sumatoria</td><td>7.51E-04</td></tr><tr><td>Raíz</td><td>2.74E-02</td></tr><tr><td>Incertidumbre final expandida</td><td>0.030</td></tr><tr><td>El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como</td><td>0.55 +/- 0.030</td></tr></table>				Sumatoria	7.51E-04	Raíz	2.74E-02	Incertidumbre final expandida	0.030	El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.55 +/- 0.030
Sumatoria	7.51E-04										
Raíz	2.74E-02										
Incertidumbre final expandida	0.030										
El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.55 +/- 0.030										

**Tabla E6.** Incertidumbre expandida Rango Alto

ESTÁNDAR DE $0.75 \text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$			
	Fuente	Incertidumbre estándar relativa (UR)	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado $(\text{UR})^2$
Incertidumbre Asociadas a la preparación del Estándar de $10 \text{ mg P} - \text{PO}_4^{3-}$	Incertidumbre estándar trazable	1.00.E-06	1.00E-12
	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	3.36.E-04	1.13E-07

Incertidumbre Asociadas a los estándares usados para preparación de la curva	Incertidumbre transfer usada en la preparación	1.99.E-02	3.96E-04
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.1 mg $P - PO_4^{3-}$	8.29.E-04	6.88E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.1 mg $P - PO_4^{3-}$	3.15.E-03	9.90E-06
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.2 mg $P - PO_4^{3-}$	8.64.E-04	7.46E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.2 mg $P - PO_4^{3-}$	7.10.E-03	5.03E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.4 mg $P - PO_4^{3-}$	8.17.E-04	6.68E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.4 mg $P - PO_4^{3-}$	6.95.E-03	4.83E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.6 mg $P - PO_4^{3-}$	3.42.E-03	1.17E-05
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.6 mg $P - PO_4^{3-}$	3.70.E-03	1.37E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	8.37.E-04	7.01E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 0.8 mg $P - PO_4^{3-}$	5.50.E-03	3.03E-05
	Incertidumbre matraz donde se preparó estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	8.37.E-04	7.00E-07
	Transfer pipeta usada para preparación de estándar de 1 mg $P - PO_4^{3-}$	3.44.E-03	1.18E-05
Incertidumbre asociada a la reproducibilidad	Incertidumbre reproducibilidad entre días y analistas	0.00.E+00	0.00E+00
Incertidumbre asociada preparación estándar bajo	Incertidumbre matraz donde se preparó el estándar	0.00.E+00	0.00E+00
	Incertidumbre transfer pipeta usada para preparar el estándar	1.32.E-02	1.75E-04

Incertidumbre  
de la curva de  
calibrado

Incertidumbre de la curva de calibrado      4.75.E-04      2.25E-07

Sumatoria	7.77E-04
Raíz	2.79E-02
Incertidumbre final expandida	0.042
El valor es reportado con un factor de cobertura K=2 como	0.75 +/- 0.042